ENRIQUE GALINDO FENTANES

EL QUEHACER DE LA CIENCIA EXPERIMENTAL

Una guía práctica para investigar y reportar resultados en las ciencias naturales

Academia de Ciencias de Morelos, A.C.

XXI

ciencia y técnica

grupo editorial
siglo veintiuno

siglo xxi editores, méxico
CERRO DEL AGUA 248, ROMERO DE TERREROS,
04310 MÉXICO, DF
www.sigloxxieditores.com.mx

siglo xxi editores, argentina
GUATEMALA 4824, C 1425 BUP
BUENOS AIRES, ARGENTINA
www.sigloxxieditores.com.ar

salto de página
ALMAGRO 38, 28010
MADRID, ESPAÑA
www.saltodepagina.com

biblioteca nueva
ALMAGRO 38, 28010
MADRID, ESPAÑA
www.bibliotecanueva.es

anthropos
DIPUTACIÓN 266, BAJOS,
08007 BARCELONA, ESPAÑA
www.anthropos-editorial.com

1ª edición | 2013

D.R. © noviembre 2013
SIGLO XXI EDITORES, S.A. DE C.V.

en coedición con
© Academia de Ciencias de Morelos, A.C.
ISBN 978-607-03-0459-0

Impreso y hecho en México

ENRIQUE GALINDO FENTANES

EL QUEHACER DE LA CIENCIA EXPERIMENTAL

Una guía práctica para investigar y reportar resultados en las ciencias naturales

ACADEMIA DE CIENCIAS DE MORELOS, A.C.

siglo veintiuno editores

Agradecimientos

A Paty
Mi amor, mi cómplice y todo…
(y coautora anónima de todos mis trabajos).

El autor agradece profundamente los comentarios y sugerencias a las varias versiones del manuscrito de este libro por parte de:

Raquel Galindo y **Pablo E. Galindo**,
quienes revisaron y comentaron los borradores iniciales y fueron los primeros y más agudos críticos —y promotores— de este libro.

Leobardo Serrano, **Carlos Peña**, **Gabriel Corkidi**, **Celia Flores** y **Ma. Soledad Córdova**,
mis colegas cercanos de muchos años y compañeros de numerosas batallas y aventuras en la investigación, por ayudarme a recordar y a reflexionar sobre lo que hacemos todos los días en el laboratorio.

Nayeli Quinto,
quien me ayudó enormemente a darle forma de libro al texto y a su ilustración.

Antonio del Río, **Julia Tagueña**, **Agustín López**, **Edmundo Calva**, **Enrique Sucar** y **Gustavo Viniegra**,
distinguidos colegas y entrañables amigos que me ayudaron a enriquecer el manuscrito con una visión muy amplia.

Mario Díaz (España), **Andrés Illanes** (Chile) y **Mauricio Trujillo** (Colombia),
quienes me ayudaron a hacerlo entendible no sólo en México.

Ruy Pérez Tamayo,
a quien mucho admiro y que, además de revisar el manuscrito (dos veces), me ayudó a conseguir que se publicara y escribió el prólogo.

Daniela Salinas y **Shirley Ainsworth**,
por su apoyo en la elaboración de figuras y en conseguir información.

Alma Ayala,
por sus amplios comentarios, en particular sobre la investigación a nivel preuniversitario.

Gerardo Abreu,
por sus comentarios como ex alumno del curso "Metodología de la investigación" (y el valor de haberlo tomado… sin este libro).

Lucas Díaz,
por la generosa revisión de la redacción.

Asimismo, el autor hace patente su agradecimiento a las siguientes instituciones:

Instituto de Biotecnología de la UNAM,
por darme el privilegio de trabajar en un sitio de excelencia con toda libertad, y en particular a todos los estudiantes que se han formado en mi laboratorio, por aportar talento, creatividad y trabajo duro, inspiración fundamental de este libro.

Academia de Ciencias de Morelos, A. C.,
por el generoso copatrocinio para la edición de este libro, y en particular a su presidente (2011-2014), Antonio del Río, por su siempre entusiasta y decidido apoyo.

Colegio Marymount de Cuernavaca,
por haberme invitado a impartir el curso que me permitió, en buena medida, reflexionar sobre mi trabajo profesional, y en especial a mis estudiantes de esa escuela, por hacerme ver la necesidad de un texto para el curso.

Desde luego, la responsabilidad de la versión final de este libro recae exclusivamente en mí.

ENRIQUE GALINDO FENTANES
Cuernavaca, Morelos, invierno de 2012

Prólogo

Amable lector:

Empiezo por confesar que yo he leído este libro completo dos veces: la primera, hace ya varios meses, cuando su autor generosamente me lo envió solicitándome que lo comentara, y la segunda, más reciente, cuando me pidió que escribiera este prólogo. Conociendo el libro, me atrevo a adivinar que probablemente usted es una de tres personas: un estudiante que lo va a usar como texto, un profesor de alguna materia científica, o bien un bibliófilo curioso.

Quizá me equivoco en esa adivinanza, pero en cambio estoy seguro de que usted es uno de los pocos individuos que leen los prólogos de los libros. Y son pocos con razón, porque como regla, los prólogos no dicen mucho y además son aburridos. Intentando escapar a tan triste destino, voy a usar este prólogo para sólo dos cosas: 1) completar el contenido de este libro, agregando algo que curiosamente no encontré en ninguna de mis dos lecturas, y 2) haciéndolo con brevedad.

Como su título lo indica, éste es un texto sobre la ciencia experimental, un manual muy completo para aprender a hacer investigación científica en el campo de las ciencias naturales. Su interés se centra en la manipulación de la naturaleza; de las ciencias no experimentales, como la física teórica, no hace mucho caso. Pero a pesar de que explica magistralmente y con numerosos ejemplos cómo se trabaja en las ciencias experimentales, *en ninguna parte se define a la ciencia*.

El texto completo puede tomarse como una *descripción* detallada y muy completa del trabajo científico a partir de la cual el lector puede o no construir su propia definición de la ciencia, que le sirva para distinguir lo que es científico de todo lo demás. El término "definir" significa "fijar con claridad, exactitud y precisión la significación de una palabra o la naturaleza de una persona o cosa". El doctor Galindo Fentanes se abstuvo de definir a la ciencia, quizá siguiendo una corriente muy favorecida entre los filósofos y científicos contemporáneos, que insisten en que la ciencia no puede definirse. Se alega que si la definición es muy estrecha se quedarán fuera algunas disciplinas como las matemáticas o las ciencias sociales, y que si es muy amplia se colarán prácticas seudocientíficas, como la homeopatía o la alquimia. Incluso se dice que la distinción clásica entre ciencia y tecnología ya no puede sostenerse, y que más bien debe hablarse de "tecnociencia".

Desde luego, yo no estoy de acuerdo. Desde hace tiempo he sostenido que la ciencia y la tecnología sí pueden definirse, por lo menos con un carácter operacional, y que tales definiciones son útiles no sólo en teoría sino también en la práctica.

Mi definición de ciencia es la siguiente: "La ciencia es una actividad humana creativa cuyo objetivo es la comprensión de la Naturaleza y cuyo resultado es el conocimiento, obtenido por medio de un método científico organizado en forma deductiva y que aspira a alcanzar el consenso entre el personal preparado".

Mi definición de tecnología es la siguiente: "La tecnología es una actividad humana transformadora cuyo objetivo es el aprovechamiento de la Naturaleza y cuyos resultados son bienes de consumo o de servicio, que contribuyen a mejorar la calidad de la vida".

Invito al amable lector a que analice y critique estas definiciones. Le apuesto a que no será un ejercicio aburrido.

Dr. Ruy Pérez Tamayo

Prefacio

Caminante, no hay camino,
se hace camino al andar

Antonio Machado

En este libro se describen los conceptos básicos y se proporcionan recomendaciones prácticas, sobre cómo se genera el conocimiento, particularmente en las ciencias en donde es posible, y muy conveniente, hacer experimentos como la principal estrategia para responder a preguntas que hacemos a la naturaleza.

Este libro es el resultado de mi experiencia como investigador y como profesor de la materia "Metodología de la investigación" en las áreas físico-matemáticas y químico-biológicas, a nivel preuniversitario. Estoy convencido de que la única forma de aprender a hacer investigación experimental es haciéndola y viendo de cerca cómo la realizan los investigadores con mayor experiencia. Esto se aplica tanto para un estudiante de doctorado como para un estudiante preuniversitario.

Hay varios títulos de libros sobre el tema de la "Metodología de la investigación", los cuales abordan la temática, principalmente desde el punto de vista de las ciencias económico-administrativas y sociales. En el caso de las ciencias naturales, hay un número limitado de obras, ya sea de carácter introductorio y de divulgación o bien con un enfoque teórico. No existen obras que describan en detalle las peculiaridades de las ciencias naturales, en particular con un enfoque práctico y basadas en la experiencia cotidiana del trabajo experimental. Por otra parte, existe un buen número de obras, principalmente en el idioma inglés, que abordan algunas temáticas particulares del trabajo de investigación. Sin embargo, no existe una obra que integre todos los aspectos a los que se enfrenta un investigador (ya sea novato o experimentado) en su trabajo cotidiano.

Con este libro se pretende cubrir ese nicho, ya que está destinado a todos aquellos que quieran conocer el proceso "tras bambalinas" por medio del cual, ocasionalmente, la ciencia llega a resultados maravillosos, además de visibles. También se tiene el propósito de mostrar las metodologías cuya aplicación resulta, en la mayor parte de los casos, en aquello no tan visible ni espectacular que es la construcción cotidiana del conocimiento, donde no es extraño que el principal fruto no sea el resultado, sino la experimentación, por parte del investigador o estudiante, del proceso para llegar a él.

La idea con la que este libro se concibió fue la de que sea útil como una guía de las metodologías de la investigación experimental para estudiantes de ciencias naturales. Su propósito es que pueda ser usado como texto para estudiantes que sigan un curso sobre "Metodología de la investigación" y para aquellos que estén aprendiendo a hacer ciencia haciéndola, sin nunca haber seguido un curso formal sobre las metodologías de la investigación.

1. LA SOCIEDAD DEL CONOCIMIENTO

La importancia de la ciencia y la tecnología en la sociedad

Los imperios del futuro son los imperios de la mente

Winston Churchill

La ciencia y la tecnología juegan un papel determinante en el desarrollo económico de un país y han contribuido de manera fundamental al bienestar de la humanidad. Es difícil imaginar el estilo de vida contemporáneo sin hacer referencias, no siempre muy obvias, a las contribuciones que la ciencia y la tecnología han aportado prácticamente en todos los campos de la actividad humana.

El físico y filósofo inglés, Bertrand Russell, escribió en 1949:

> Así como la religión y el arte existen desde hace ochenta mil años, la ciencia, como fuerza importante, comienza con Galileo y, por consiguiente, existe desde hace unos trescientos años. En la primera mitad de ese corto periodo, fue como un anhelo de los eruditos, sin afectar a los pensamientos o costumbres de los hombres corrientes. Sólo en los últimos ciento cincuenta años la ciencia se ha convertido en un factor importante que determina la vida cotidiana de todo el mundo. En ese breve tiempo ha causado mayores cambios que los ocurridos desde los días de los antiguos egipcios. Ciento cincuenta años de ciencia han resultado más explosivos que cinco mil años de cultura precientífica (Russell, 1992).

Esta aseveración sigue vigente en la actualidad y es cada vez más cierto y dramático, ya que bien podríamos decir que la evolución y el impacto de la ciencia en los últimos sesenta años (desde que Russell lo escribió), ¡han resultado mucho más explosivos que los primeros 150 años de ciencia!

El conocimiento científico, que se puede medir por el número de artículos científicos publicados a nivel mundial, ha tenido un crecimiento exponencial en los últimos cincuenta años (figura 1.1, p. 14). Esto puede interpretarse como que la comunidad científica mundial duplica todo el conocimiento previo de la humanidad, en menos de cuarenta años.

Si bien la ciencia y la tecnología han tenido impactos muy visibles en la transformación de nuestra vida cotidiana, el mayor de éstos se relaciona con el entendimiento de la naturaleza y, en consecuencia, con nuestra forma de interaccionar con ella. A veces no es evidente en la vida cotidiana, donde algunos piensan que la ciencia, y sobre todo la tecnología, son las causantes de la contaminación, de la violencia y de otros muchos males que aquejan a la humanidad.

Está bien documentado que aquellas naciones que han invertido seriamente en ciencia y tecnología, son más prósperas y con mejores niveles de vida. La ciencia ha cambiado radicalmente al mundo, no sólo en términos materiales, que son los más visibles, sino sobre todo en términos de cómo lo entendemos e interaccionamos con él. Este cambio se ha dado de una forma vertiginosa, a tal grado que en relativamente poco

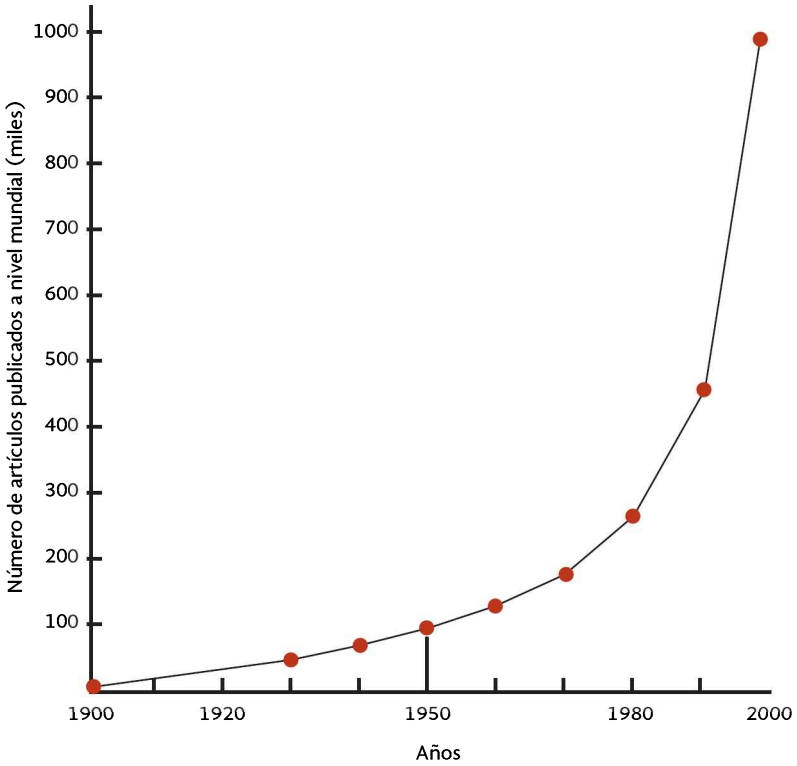


Figura 1.1 Explosión del conocimiento científico. Adaptación de la figura 6.2, p. 158, del libro *El universo en una cáscara de nuez*, S. Hawking, Barcelona, Crítica/Planeta, 2003.

tiempo, la humanidad ha pasado de ser una sociedad agrícola a convertirse en una industrial, para aproximarse a ser una sociedad basada en el conocimiento.

Las sociedades modernas que aspiren a tener elevados niveles de desarrollo y calidad de vida de sus ciudadanos, tendrán que generar conocimiento de una forma cada vez más eficiente y competitiva.

Referencias

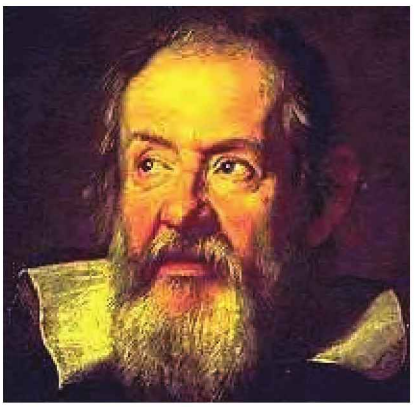
Russell, Bertrand, "Introducción", en *La perspectiva científica*, Barcelona y México, Planeta-Ariel, 1992, pp. 7-9 (edición original en inglés: *The Scientific Outlook*, Londres, George Allen & Unwin Ltd., 1949).

Lecturas adicionales sugeridas

Pérez Tamayo, Ruy, *Cómo acercarse a la ciencia*, México, Limusa-Noriega Editores, 150 pp. En el prólogo de esta colección de breves ensayos, el doctor Pérez Tamayo dice: "El objetivo de estas páginas es proporcionar una visión inicial de la estructura y algunas características de la ciencia que resulte accesible y amable al lector. El mundo contemporáneo está de tal modo permeado por la ciencia que nuestras vidas transcurren casi completamente sumergidas en ella".

2. GALILEO

Los orígenes de la investigación experimental



Mide lo que se pueda medir, y lo que no se pueda medir, hazlo medible

Galileo Galilei

Hoy en día, ante algo no conocido, pretendiendo conocerlo, es común oír "haz la prueba". "Hacer la prueba" significa, más formalmente, realizar un experimento. Esta forma de conocer la realidad nos parece, además de lógica, muy familiar y convencional, pero no siempre fue así. Antes de mediados del siglo XVI, "hacer la prueba" no sólo no era lógico ni aceptado, sino que resultaba hasta peligroso. Un italiano, nacido en Pisa en 1564, quien iba a ser médico pero que terminó siendo matemático, revolucionó la forma de adquirir el conocimiento. Hoy nos parecería trivial y sin importancia que alguien nos dijera, ante un asunto desconocido, que "hiciéramos la prueba". Pero justamente ésa fue la aportación más importante que Galileo Galilei hizo a la "filosofía natural", como se llamaba en esa época lo que hoy conocemos como "ciencia". Por ello se considera a Galileo el primero de los científicos, en el sentido moderno de la palabra.

Aunque Galileo murió hace casi cuatro siglos (en 1642), en las ciencias naturales los científicos seguimos usando la misma manera para generar conocimiento: haciendo experimentos. Los investigadores experimentales actuales tenemos mucho que agradecerle, no sólo porque hacer experimentos es convencional y casi siempre muy útil, sino también porque nos legó la manera de hacerlos bien, de una forma sistematizada y rigurosa. Además, nos enseñó la utilidad y necesidad de construir instrumentos para obtener información que no se puede generar sólo con los sentidos y cómo usar la información obtenida para elaborar leyes, que permiten hacer predicciones sobre el comportamiento de un sistema que sigue las mismas leyes, pero bajo condiciones diferentes. Nada menos que la esencia del quehacer científico moderno.

Para entender la inmensa contribución de Galileo, hay que poner en perspectiva la situación que prevalecía en el ámbito de la "filosofía natural" en el mundo occidental a mediados del siglo XVI. Fundamentalmente, los filósofos naturales se basaban en las enseñanzas de los clásicos, principalmente de Aristóteles (384-322 a.C.) o bien en lo escrito en los libros sagrados, principalmente la Biblia. Los textos de los clásicos y los libros sagrados constituían verdades absolutas sobre las cuales se conocían e inferían todas las cuestiones de la naturaleza. Si algún filósofo natural quería "investigar" algún fenómeno, consultaba a los clásicos y obtenía conclusiones que resultaran de un análisis lógico del propio texto clásico. Era lo que se ha llamado la "ciencia de sillón" (de Régules, 2001), esto es:

a) se planteaba un problema
b) se buscaba un texto clásico que hablara del tema
c) se concluía o infería, haciendo uso de la lógica deductiva, sobre el particular
d) y … ¡listo!

Para ilustrar el asunto, vale la pena reproducir parcialmente el excelente texto de Sergio de Régules (2001) titulado "El huevo de Galileo", publicado en la revista *¿Cómo ves? Revista de Divulgación de la Ciencia de la Universidad Nacional Autónoma de Méxic*o. El texto cuenta la historia de cómo Galileo se enfrentó al jesuita Orazio Grassi para demostrar (Galileo con un experimento y Grassi mediante una deducción de un texto clásico) que un proyectil en vuelo se calentaba —según Grassi— o se enfriaba —según Galileo— usando un huevo en movimiento:

> No hay mejor ejemplo del contraste entre la manera antigua y moderna de hacer ciencia que una polémica que sostuvieron a principios del siglo XVII Galileo y el estudioso jesuita Orazio Grassi acerca de la temperatura de los proyectiles. Grassi decía que los proyectiles en vuelo se calentaban, Galileo decía que se enfriaban.
>
> Grassi optó por un método de investigación que ya en esa época era añejo (y aún hay quien confunde añejo con eficaz): buscó la confirmación de su hipótesis en los libros de las todopoderosas autoridades antiguas. Quiso la fortuna que Grassi diera en sus pesquisas con un texto griego cuyo autor, al parecer historiador, afirmaba que los babilonios cocían huevos atándoles cuerdas y haciéndolos girar como si quisieran lanzar una piedra con una honda. *Ergo*, se dijo el astuto Grassi muy ufano, los proyectiles siempre se calientan. Que es lo que queríamos demostrar. Y sanseacabó.
>
> Galileo (¡terco de él!) se negaba a aceptar ciegamente la autoridad de los antiguos, de manera que, cuando se enteró del argumento de Grassi, tuvo la pintoresca idea de conseguir un huevo y una onda y ponerlos a girar hasta que le dolió el brazo. El huevo, naturalemente, no se coció, lo cual no le bastó a Galileo. Entonces puso a hervir agua y metió el huevo en el recipiente para calentarlo. Una vez caliente el huevo lo puso a girar con la honda y comprobó que se enfriaba. Muy satisfecho, Galileo se comió el huevo en el desayuno y luego se fue a hacer trizas al pobre de Grassi con el siguiente razonamiento, de una mordacidad típicamente galileana:
>
> > Si Grassi pretende que yo crea que los babilonios cocían huevos haciéndolos girar con hondas, lo creeré, pero la causa de tal efecto no es la que Grassi supone. Para describir la verdadera causa razono de esta manera: si no obtenemos un efecto que otros han obtenido en el pasado, debe ser porque a nuestras operaciones les ha faltado algo que a los otros no. Y si sólo nos falta una cosa, entonces esa cosa tiene que ser la verdadera causa. Ahora bien, huevos no nos faltan, hondas tampoco, ni tampoco gente fuerte para ponerlos a girar; con todo, nuestros huevos no se cuecen, sólo se enfrían si estaban calientes. Así, puesto que lo único que nos falta es ser babilonios, es el ser babilonio lo que hace cocer al huevo y no la fricción del aire.
>
> Hoy en día sabemos que el proyectil se calentará o se enfriará dependiendo de varios factores como la temperatura del aire, la velocidad del proyectil, el material de que está hecho, y por lo general, de si predomina la producción de calor por fricción o el enfriamiento por convección. Pero el hecho de que ambos contendientes en esta disputa hayan tenido parcialmente la razón no debería impedirnos ver que el método de Galileo es muy superior al de Grassi. Grassi acertó por error (los proyectiles se pueden calentar, mas no porque lo haya dicho una autoridad griega); Galileo erró por no acertar bastante (en su experimento el proyectil se enfrió, pero en ciertas circunstancias podría calentarse; por ejemplo, si volara a la velocidad del sonido).
>
> El método galileano de comprobación experimental y razonamiento lógico reina hoy en día dondequiera que se practique la ciencia, salvo en muchas escuelas, donde la autoridad y la memorización siguen predominando.

Una de las leyendas que han pasado de generación en generación sobre Galileo es aquella que cuenta cómo, lanzando dos objetos de diferente peso desde lo alto de la torre de Pisa, demostró que ambos llegaban al suelo al mismo tiempo. No hay evidencia de que se haya hecho tal cosa; más bien la evidencia del propio Galileo apunta a que fueron otros los que hicieron el experimento para demostrarle que estaba equivocado:

> Aristóteles dice que una bola de cien libras de peso que caiga de una altura de cien codos llega al suelo antes que una bola de una libra que caiga desde la altura de un codo. Yo afirmo que llegan al mismo tiempo. Si se hace la prueba, se ve que la bola mayor adelantará a la menor por dos pulgadas. Ahora bien, detrás de esas dos pulgadas queréis esconder los noventa y nueve codos de Aristóteles, y habláis solo de mi error, pero guardáis silencio sobre su enorme equivocación.

Como es claro, el experimento que supuestamente hicieron los partidarios de Aristóteles demostraba claramente ¡que aquéllos estaban equivocados! Un experimento honesto y bien hecho, siempre dice la verdad.

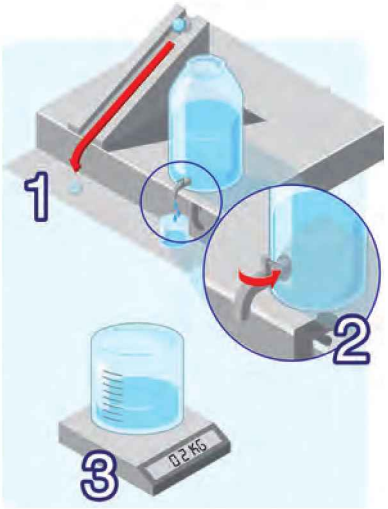
Una de las aportaciones más importantes de Galileo es "la ley de la caída de los graves", esto es, cómo se comporta, en términos de su velocidad y del tiempo, un objeto en caída libre. Galileo se enfrentó ante un problema doble al tratar de resolverlo… y la solución nos legó aspectos fundamentales para el quehacer de la ciencia. En primer lugar, la caída de los cuerpos es un fenómeno que sucede muy rápido y no existían relojes suficientemente precisos para documentar el proceso. Es indispensable contar con instrumentos fiables para lo que se quiere medir. Haciendo gala de ingenio, Galileo desarrolló un sistema para medir intervalos muy cortos de tiempo de forma reproducible y fiable. Al respecto, vale la pena citar al propio Galileo en una de sus obras fundamentales (*Diálogos de dos nuevas ciencias*, 1638):

> Para la medida del tiempo empleamos un gran recipiente de agua colocado en una posición elevada; en el fondo de este recipiente se soldó un tubo de pequeño diámetro que da un fino chorro de agua, que recogemos en un pequeño vaso durante el tiempo de cada descenso… el agua así recogida se pesa en una balanza muy precisa; la diferencia y las proporciones de peso nos dan las diferencias y proporciones de los tiempos […] (Galilei, 1638).

Sin embargo, la caída libre seguía siendo un fenómeno muy rápido para ser medido por su reloj de agua. Si no se tiene un reloj suficientemente preciso para medir intervalos de tiempo muy cortos, ¿qué se puede hacer?, se preguntó seguramente Galileo. Lo que hizo fue desarrollar un modelo experimental, que siguiera los mismos principios del problema real, pero que pudiera ser medido con los instrumentos disponibles. Galileo desarrolló el plano inclinado, en donde era posible —en sus palabras— "frenar" el movimiento hasta hacerlo medible. La idea de estudiar modelos es algo muy común y útil en la ciencia moderna.

Estos experimentos han sido repetidos en la actualidad (Rice University, 2006) usando un plano inclinado y una versión del reloj de agua (clepsidra) usado por Galileo. El experimento consiste fundamentalmente en soltar, desde la parte superior del plano inclinado, una bola metálica (balín) y medir —varias veces— el tiempo que tarda la bola en recorrer una determinada distancia. En la tabla 2.1 (p. 20) se reproducen los datos que se obtuvieron. Como se sabe, los datos son fundamentales para el avance de la ciencia; pero éstos, a pesar de las dificultades para obtenerlos, no son, por sí solos, información o conocimiento. La contribución fundamental de Galileo fue establecer el patrón de los datos, despues de haberlos repetido varias veces. La figura 2.1 (p. 21) muestra lo que obtuvo. Dicho en pocas palabras: si se duplica la distancia recorrida, la bola irá cuatro veces más rápido. Si se triplica la distancia, la bola se moverá nueve veces más rápido, y así sucesivamente. Esto es: la velocidad aumenta al cuadrado de la distancia. También demostró que el tamaño de la bola no afectaba mucho los resultados, el elegante equivalente de haber dejado caer dos bolas de diferentes tamaños desde lo alto de la torre de Pisa, experimento que Galileo seguramente nunca hizo.

Lo anterior hubiera sido suficiente para que Galileo se ganara un lugar privilegiado en la historia de la ciencia. Pero hizo mucho más, sobre todo en el ámbito de la astronomía, donde sus descubrimientos fueron fundamentales. Galileo no inventó el telescopio, pero lo mejoró y lo usó para lo que nadie lo había usado, una



Esquema del experimento de Galileo sobre un plano inclinado y el uso de la clepsidra.

Tabla 2.1. Masa de agua colectada (gramos)

Prueba	Distancia total	3/4	1/2	1/4
1	33.3	31.3	21.9	18.1
2	35.1	30.6	21.9	19.0
3	32.9	29.7	27.0	19.7
4	34.0	30.7	25.9	19.4
5	33.7	30.4	27.3	16.3
6	34.1	27.4	26.8	17.7
7	34.5	28.3	27.1	20.0
8	33.6	30.2	25.8	18.7
9	34.8	31.4	28.3	18.4
10	33.7	23.6	27.3	15.6
11	35.3	26.5	27.3	13.9
12	34.6	28.8	27.4	13.7
13	35.2	28.7	26.6	17.4
14	32.8	28.7	22.6	16.4
15	35.4	29.6	25.0	16.2
16	33.5	23.8	24.9	14.3
17	35.1	24.5	22.5	15.6
18	32.2	27.9	25.5	17.3
19	35.5	30.5	20.8	17.3
20	34.3	27.9	25.2	16.9
Promedio	34.2	25.5	25.4	17.1
Desv. Est.	0.87	2.37	2.23	1.86

* Los datos fueron obtenidos simulando los instrumentos con los que se contaba en su época (<http://galileo.rice.edu/lib/student_work/experiment95/ramp.html>).

actividad muy común de las ciencias y la tecnología modernas. El telescopio era un reinvento, ya que se atribuye la primicia a Digges que popularizó Hans Lippershey, un fabricante holandés de anteojos.

Galileo se enteró del invento de tres aumentos que se vendía como juguete en París y se percató de que un instrumento como ése podría tener aplicaciones militares y comerciales en Venecia, donde él vivía hacia 1609. Modificó el telescopio original de Lippershey, logró un aumento de 10 y que la imagen no estuviera "invertida", como en los telescopios astronómicos, incluso hoy en día. Su aportación principal fue usar una lente cóncava, para el objetivo y otra convexa, para el ocular.

Al usar el telescopio demostró que lo que se observaba era real, esto es, que el instrumento no causaba ningún tipo de distorsión al objeto que se estaba observando. Para ello observó una gran cantidad de objetos terrestres claramente identificables y demostró que el telescopio, lo único que hacía, era amplificar la imagen. Esta actividad que parece simple, es fundamental en la ciencia moderna, en la que los científicos dependemos de instrumentos cada vez más sofisticados y en donde es crucial asegurarse de que lo que medimos es un fenómeno de característica real y no un artefacto creado por el propio instrumento.

En vez de usar el telescopio para ver barcos aproximándose al puerto de Venecia, lo apuntó al cielo y lo que descubrió fue verdaderamente extraordinario. El dictamen de un comité de jesuitas nombrado por el papa Paulo V para examinar la obra de Galileo en relación con sus descubrimientos astronómicos, previo a su juicio por la Inquisición, constataba que:

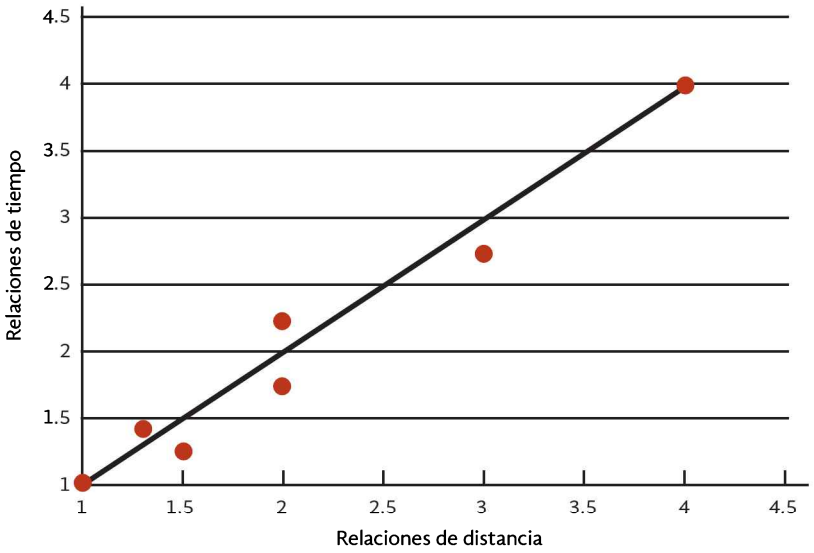


Figura 2.1 Datos procesados (de la tabla 2.1) del experimento del plano inclinado. Galileo demostró que la velocidad del balín es proporcional al cuadrado de la distancia recorrida.

1. *La Vía Láctea está formada realmente por un gran número de estrellas.* En aquella época se pensaba que las estrellas no formaban parte de la galaxia y que la propia galaxia no estaba constituida de estrellas.
2. *Saturno tiene una extraña forma ovalada con protuberancias a cada lado.* Galileo no pudo ver los anillos de Saturno, ya que su telescopio no le permitía resolver los anillos, los cuales se veían como "orejas" de Saturno.
3. *Venus presenta fases.* Esto sólo se había observado en la Luna y, para explicarlo, era necesario que Venus girara alrededor del Sol.
4. *Júpiter tiene cuatro satélites.* Lo que demostraba que un cuerpo celeste diferente a la tierra podría tener otros cuerpos celestes girando alrededor de él.

Las implicaciones eran pruebas indirectas de la teoría heliocentrista. Sin embargo, en aquella ocasión en particular, la Iglesia católica ni siquiera lo sugirió en su resolución ni pareció haberle causado ningún conflicto.

Con el telescopio, Galileo hizo otros descubrimientos importantes, contrarios a la teoría aristotélica de la "perfección celeste":

a) La Luna tiene cráteres y no es totalmente esférica.
b) El sol tiene manchas. Esto no era nuevo, pero Galileo no tenía conocimiento de antecedentes al respecto.
c) Las estrellas que aparecen súbitamente en el cielo (supernovas) estaban a distancias similares a las de las demás estrellas y no más cercanas.

Todos estos descubrimientos y sus implicaciones fueron muy importantes, pero más importante es la forma como fueron obtenidos: mediante una observación cuidadosa y reproducible de los fenómenos, lo cual no era común ni convencional en la época de Galileo.

Para concluir este capítulo se mencionarán dos aspectos adicionales de las actividades de Galileo que lo identifican con todas las características del científico moderno. Uno de ellas se refiere a la forma en que Galileo enfrentó a los escépticos que argumentaban que las manchas solares podían ser producidas por el propio telescopio: demostró que las manchas solares, sobre todo las más grandes, pueden ser vistas sin necesidad de usar el telescopio. En palabras de Galileo:

> En efecto, sin otro instrumento que un pequeño agujero por el que pasen los rayos solares, se traslada a grandes distancias y se proyecta sobre cualquier superficie opuesta la imagen del Sol junto con las manchas. Bien es cierto que no son tan notablemente nítidas como las del telescopio, si bien las mayores se ven con bastante claridad. Así, cuando su señoría vea en la iglesia que desde un vidrio roto y lejano cae sobre el pavimento la luz del Sol, acuda allí con una hoja blanca extendida sobre la que verá las manchas.

Este episodio prueba, además del rigor que mostraba Galileo para demostrar experimentalmente lo que sostenía, que era posible que una persona común —y no sólo los eruditos— pudieran comprobar por ellos mismos y sin instrumentos sofisticados, que lo que se planteaba de un determinado fenómeno resistía la prueba.

Otro ejemplo que demuestra el carácter de científico moderno con el que se puede identificar a Galileo es un trabajo llevado a cabo en el verano de 1611 y que describe brillantemente John Gribbin en su *Historia de la ciencia, 1543-2001* (Gribbin, 2003):

> En una discusión entre profesores de la Universidad de Pisa sobre el tema de la condensación, uno de los colegas de Galileo afirmó que el hielo tenía que ser considerado como una forma condensada de agua, ya que el hielo es sólido y el agua es líquida. Por otra parte, Galileo sostenía que, puesto que el hielo flota en el agua, ha de ser más ligero (menos denso) que ésta, y por lo tanto se podría considerar como un cierto tipo de agua enrarecida. El otro profesor se mostró en desacuerdo con esta idea y dijo que el hielo flotaba porque tenía una base amplia que no podía abrirse camino hacia abajo en el agua. Galileo refutó este argumento señalando que si un trozo de hielo se mantiene sumergido y luego se suelta, su forma ancha y plana no le impide subir mediante un impulso hacia arriba a través del agua. A esto siguió un debate sobre si los objetos sólidos hechos del mismo material (y, por consiguiente, con la misma densidad) podían hundirse o flotar en el agua sólo por tener formas diferentes. Finalmente Galileo desafió a su principal oponente en este debate (que, por cierto, había suscitado un gran interés en Pisa) a demostrar mediante un experimento que diversos objetos con la misma composición, pero con formas diferentes, estando en principio totalmente sumergidos en el agua, emergerían o permanecerían inmersos dependiendo de la forma que tuvieran. El día que se iba a realizar este experimento públicamente, el rival de Galileo no se presentó.
>
> La cuestión no era que el razonamiento de Galileo fuera correcto —aunque sí lo era—, sino que lo importante era su disposición a comprobar aquel razonamiento mediante experimentos claramente planeados y realizados en público, y a aceptar los resultados de los experimentos —algo que todavía era una novedad, incluso en 1611—. Esto es lo que convierte a Galileo, ante los ojos de muchos, en el primer científico.

Galileo nos legó lo que se conoce como "el método científico", que puede describirse como la forma de obtener información de la naturaleza de una manera sistemática, rigurosa y comprobable, lo cual fue novedad en su época y que ha resultado particularmente efectiva hasta la fecha.

Galileo dio los primeros y fundamentales pasos en la metodología de la ciencia moderna. Después de él vinieron muchos otros científicos que, aplicando y refinando los métodos del primero, hicieron aportaciones fundamentales al conocimiento de la naturaleza. Isaac Newton, que nació el mismo año que murió Galileo, reconoció que había llegado hasta donde llegó, porque había estado "sobre hombros de gigantes". Muchos otros gigantes, como Einstein, Darwin y Pasteur, nos han legado no sólo un conocimiento profundo de la naturaleza, sino las formas más elegantes para llegar a él.

Referencias

De Régules, Sergio, "El huevo de Galileo", *¿Cómo ves?*, núm. 36, 2001, pp. 22-24.
Galilei, Galileo, *Diálogo sobre dos nuevas ciencias* (1638), en Stephen Hawking, *A hombros de gigantes. Las grandes obras de la física y la astronomía*, Barcelona, Crítica, 2005, pp. 357-553.
Gribbin, John, *Historia de la ciencia 1543-2001*, Barcelona, Crítica, 2003, 552 pp. (<www.ed-critica.es>)
Rice University, *The Galileo Project*, 2006, <http://es.rice.edu/ES/humsoc/Galileo>.

Lecturas adicionales sugeridas

Galilei, Galileo, *La gaceta sideral*, México, Consejo Nacional para la Cultura y las Artes, Alianza Cien, 1994, 93 pp. (traducción de *Siderus Nuncius*, 1610). Texto de Galileo escrito como periódico, y dedicado al IV Duque de Toscana, en cuya portada dice lo siguiente: "La Gaceta Sideral que muestra grandes y muy admirables maravillas e invita a contemplarlas a todos, aunque en especial a los Filósofos y Astrónomos, las cuales GALILEO GALILEI, PATRICIO FLORENTINO y matemático oficial de la Universidad Paduana, mediante el ANTEOJO poco ha por él descubierto, ha observado en la faz de la luna, en innumerables fijas, en la Vía Láctea, en las estrellas nebulosas, aunque sobre todo en CUATRO PLANETAS que giran con admirable rapidez en torno a la estrella de Júpiter con desiguales intervalos y periodos, de las que nadie supo hasta este día y que hace poco observó por primera vez el autor, diciendo llamarlos ASTROS MEDÍCEOS…".

Hawking, Stephen, *A hombros de gigantes. Las grandes obras de la física y la astronomía*, Barcelona, Crítica, 2005, 1135 pp. (<www.ed-critica.es>). Antología de trabajos originales (en español) de Copérnico (*Sobre las revoluciones de las orbes celestes*), Galileo (*Diálogo sobre dos nuevas ciencias*), Kepler (*Las armonías del mundo*), Newton (*Principios matemáticos de la filosofía natural*) y Einstein (*El Principio de la Relatividad*), escrita por Stephen Hawking, que ocupa la cátedra Lucasiana de la Universidad de Cambridge, en Inglaterra (que ocupara Newton).

Lozano Leyva, Manuel, *De Arquímedes a Einstein. Los diez experimentos más bellos de la física*, México, Random House Mondadori, 2005, 255 pp. (<www.randomhousemondadori.com.mx>). Libro ameno que describe los experimentos que, a juicio de una encuesta llevada a cabo entre la comunidad de físicos en 2001, constituyen aquellos que tenían "la máxima simplicidad de medios para realizarla y la gran capacidad de cambiar el pensamiento dominante a partir de sus conclusiones". Su autor, un respetado físico y divulgador español, además de describir los experimentos en lenguaje para todos los públicos, adereza el texto con sabrosas historias y anécdotas de cada uno de los personajes involucrados.

Russell, Bertrand (1992), "Ejemplos del método científico", en *La perspectiva científica*, Barcelona y México, Planeta-Ariel, pp. 13-34. Edición original en inglés: *The scientific outlook*, Londres, George Allen & Unwin Ltd., 1949. En este capítulo, Russell describe las características del método científico con los ejemplos de las aportaciones de Galileo, Newton, Darwin y Pavlov.

Vaquero, José M. (2003), *La nueva física. Galileo*, col. Científicos para la historia, España, Nivola Libros y Ediciones, Tres Cantos, España, 157 pp. (<www.nivola.com>). Biografía en forma de recorrido por la vida, la obra y la sociedad en la que vivió Galileo Galilei. Describe sus principales aportes a la ciencia del movimiento y a la astronomía, con especial énfasis en sus estudios sobre las manchas solares. Proporciona abundantes y fiables fuentes de información (incluyendo Internet) sobre la vida y obra de Galileo.

2. GALILEO

Los orígenes de la investigación experimental

El método, ¿cuál método?

Sergio de Régules

Es común en los libros de texto de ciencias naturales que se hable de "el método científico" como si se tratara de una receta. ¿Existe tal cosa? A continuación se incluyen citas de dos eminentes científicos mexicanos que se encuentran entre los muy pocos en Iberoamérica que también han sido estudiosos de la filosofía de la ciencia:

> [...] El método científico es el que siguen los hombres de ciencia en sus laboratorios o gabinetes, cuando se dedican a la investigación científica.
>
> Arturo Rosenblueth, *El método científico*, 1971

> El método científico, concebido como una receta que, aplicada a cualquier problema, garantice su solución, realmente no existe, pero tampoco puede negarse que la mayor parte de los investigadores trabajan de acuerdo con ciertas reglas generales que a través de la experiencia han demostrado ser útiles. La descripción de estas reglas es lo que se conoce como el método científico. Por lo tanto, parecería que la forma más sencilla de conocer las reglas mencionadas fuera preguntarles a los investigadores cómo investigan, o mejor aún, observarlos cuando están trabajando en la generación de nuevos conocimientos científicos. Para mi sorpresa, esto sólo ha ocurrido por excepción; la regla ha sido que los filósofos construyan distintas estructuras teóricas (todas ellas lógicamente impecables) sobre lo que es o debería ser el método científico, en divorcio absoluto con la realidad.
>
> Ruy Pérez Tamayo, *Cómo acercarse a la ciencia*, 2001

> Nuestros trabajos científicos, tanto téoricos como prácticos, finalmente funcionan eficientemente en la naturaleza. Eso es todo lo que la ciencia, a través de toda la historia, ha pretendido ser: una actividad humana dedicada a identificar, definir y resolver problemas de la realidad, problemas de la naturaleza.
>
> Ruy Pérez Tamayo, *¿Existe el método científico?*,1998

Las citas ilustran que:

a) No se puede hablar de *el* método científico.
b) La mayoría de los investigadores no se preocupan de que los filósofos determinen si existe o no un método científico.
c) Los científicos sí siguen normas —no necesariamente universales— que han sido útiles y efectivas para generar conocimiento.
d) El principal valor del conocimiento, además del inherentemente cultural, es que *funciona* en la realidad de la naturaleza.

De forma ideal, el convencionalmente llamado, en singular (y deliberadamente en cursivas en este capítulo), *método científico* consiste en cuatro pasos:

1. Planteamiento del problema.
2. Formulación de una hipótesis.
3. Comprobación o refutación de la hipótesis.
4. Construcción de leyes, teorías y modelo.

Esto ha sido particularmente válido y útil para la física que inició Galileo: de la observación de hechos particulares se pasa, por inducción, al establecimiento de leyes cuantitativas rigurosas; por medio de las cuales los hechos particulares futuros pueden, por deducción, ser predichos.

Obviamente, en otras ramas del conocimiento donde la realidad es más compleja y en donde *el método* tiene muchas variantes, la situación no es tan simple y deben aprovecharse todos los recursos, aunque no sean ortodoxos (véase capítulo 4, p. 35). Se debe enfatizar que *el método* no produce por sí solo el conocimiento y que su utilidad también radica en lo que *no* hace (Bunge, 1989):

a) evita perdernos en el caos aparente de los fenómenos,
b) dice cómo *no* plantear los problemas,
c) … y cómo *no* sucumbir al embrujo de nuestros prejuicios predilectos.

Es posible que *el método* no sea otra cosa que sentido común y sistematización de ideas, aplicados a la generación del conocimiento. Sin embargo, su utilidad ha sido muy alta, como lo demuestra el exponencial progreso de la ciencia en los últimos cuatro siglos, desde las aportaciones pioneras de Galileo.

Desde un punto de vista meramente práctico, los pasos del método científico, son:

1. Planteamiento del problema

Plantear cualquier problema es la premisa fundamental para poder resolverlo ya que es imposible resolver lo indefinido. Parece obvio y así es. Sin embargo, es sorprendente la cantidad de veces que he visto, a lo largo de mi carrera, intentos por resolver problemas de investigación que no están definidos o que están pobremente definidos, que es prácticamente lo mismo.

En ciencia, plantear un problema es, además de establecer el tema específico de la investigación, delimitarlo y simplificarlo. Esto no quiere decir que no existan, ni deban plantearse, problemas complejos. Como dijo Einstein: "la realidad debe ser explicada con los modelos más simples posibles, pero nunca más simples que eso […]". Los modelos más simples que expliquen la realidad, aunque sea parcialmente, pueden llegar a ser muy complejos.

Los problemas en ciencia pueden ser muy complejos. Se abordan mediante aproximaciones sucesivas y con modelos que, sin tener la complejidad del problema real, permiten analizar partes de él, con el objetivo de conocer mejor el sistema completo.

La figura 3.1 es un cuadro de Picasso que ilustra muy bien, en forma esquemática, cómo deben delimitarse y simplificarse los problemas científicos si queremos entender el problema real. La figura del toro en la

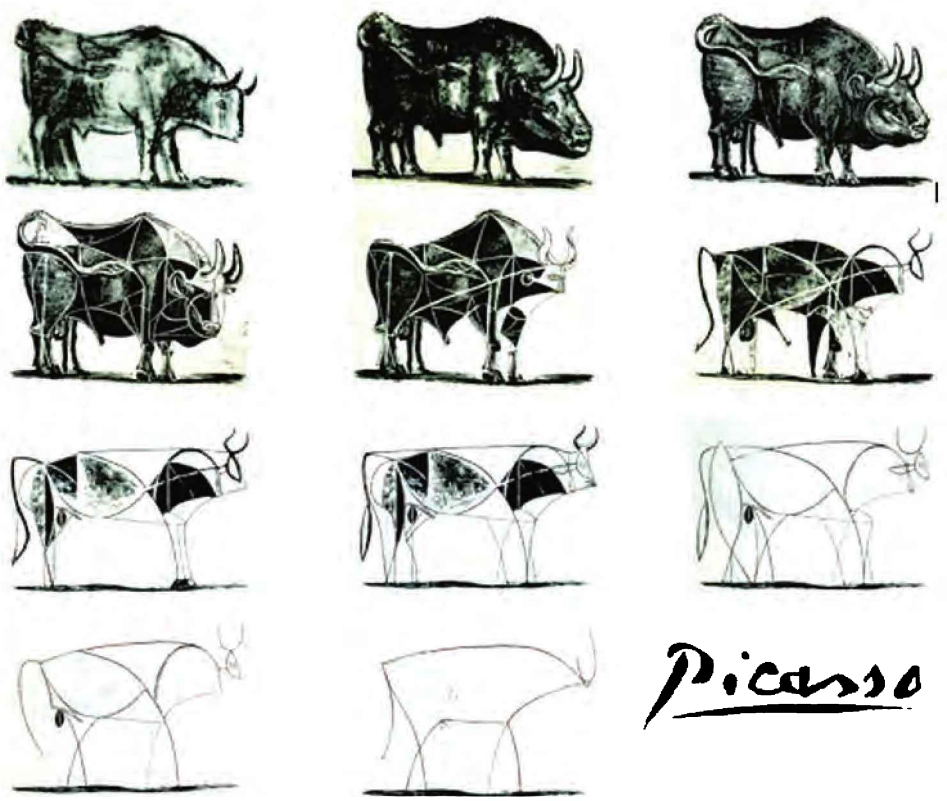


Figura 3.1
Descomposición y simplificación de un toro. Cuadro de Pablo Picasso ("Abstracciones sucesivas a partir de la figura de un toro", 1946). D.R. © Pablo Picasso/ADAGP/SOMAAP/México/2012. Reproducido con autorización.

esquina superior derecha del cuadro representaría el problema real, que en este caso, podría ser entender cómo funciona un animal complejo como el toro. Picasso "descompuso" al toro secuencialmente, hasta convertirlo en bosquejo de pocas líneas, como en la parte inferior derecha del cuadro. En el toro simplificado resulta más fácil descomponer sus partes y entender las interacciones entre ellas. Eso es lo que se hace en ciencia al delimitar y simplificar un problema: se estudia un modelo más simple, susceptible de ser estudiado con las herramientas con las que se cuenta.

Al decidir el tema a investigar, es indispensable delimitarlo y simplificarlo tanto como sea posible, pero parafraseando a Einstein, "nunca más que eso…". Algunas recomendaciones son las siguientes:

- Es mejor resolver bien un problema pequeño (o simplificado), que resolver mal, o superficialmente, un problema grande. Sin embargo, si se plantean bien, no hay problemas pequeños (o simples).
- Independientemente de lo original o importante que sea el proyecto, se debe delimitar según los recursos —de tiempo y de infraestructura, principalmente— que se podrán invertir en él. No se debe asumir que el tiempo no es una limitación ni que la infraestructura con la que no se cuenta se conseguirá en el plazo del proyecto.
- Escribir de antemano, con el mayor detalle posible, lo que se piensa lograr. Parece obvio, pero no lo es. Cuando se trata de escribir con detalle los objetivos, surgen cuestionamientos sobre la viabilidad del proyecto como está planteado.
- Es crucial, en cualquier proyecto, que el problema que hay que resolver sea ampliamente discutido. En primer lugar, con el supervisor directo del trabajo y luego con otros investigadores o estudiantes con experiencia; en seminarios o "ensayos" de la presentación de la idea o problema específico. También es muy sano y enriquecedor plantearlo a investigadores y colegas que no necesariamente tengan experiencia específica en el

tema. Tales académicos aportan ideas y críticas de carácter más bien filosófico y de procedimiento, que los expertos, que dada su especialización, a veces no pueden apreciar debidamente estos importantes aspectos.

La delimitación y simplificación del problema resulta ser un proceso interactivo entre el estudiante o investigador y sus tutores o colegas, cuando las versiones preliminares del problema se someten a la crítica de supervisores o pares. Los investigadores con experiencia y con conocimiento del tema, sin duda podrán juzgar respecto a la viabilidad de resolver el problema planteado originalmente.

2. Formulación de una hipótesis

La palabra hipótesis tiene sus orígenes en el griego *hipo*: bajo y *thesis*: posición o situación. Indica que se asume que sucede bajo una determinada posición o situación. Otras definiciones formales y útiles de hipótesis son:

- Explicación supuesta que está bajo ciertos hechos, a los que sirve de soporte.
- Enunciado fáctico general susceptible de ser verificado.
- Explicación anticipada que permite al investigador asomarse a la realidad.
- Suposición fundamentada y comprobable que permite establecer relaciones entre hechos.
- Suposición de una cosa posible o imposible para sacar de ella una consecuencia (Real Academia Española de la Lengua).

Una hipótesis es básicamente la creencia o apuesta de que algo ocurrirá de cierta manera. Desde luego, esa apuesta debe ser formulada de la manera más fundamentada posible; esto es, teniendo en cuenta que sea razonablemente posible y que por lo tanto se desea ganar la apuesta. La correcta formulación de una hipótesis es un aspecto crítico en un proyecto de investigación. Algunas sugerencias concretas al respecto se describen en detalle en el capítulo 7 (p. 57).

3. Comprobación o refutación de la hipótesis

Una vez que se ha definido y delimitado el problema que se debe resolver y se ha planteado una hipótesis de trabajo de forma clara y precisa, lo que hay que hacer es verificar, mediante experimentos, si la hipótesis es aceptada o rechazada. Este aspecto, que ocupa aquí unos cuantos renglones, ¡puede llevar años de trabajo experimental!

La contundencia con la que se aceptan o rechazan las hipótesis depende de dos aspectos básicos:

a) La precisión con la que se escribe.
b) El diseño de los experimentos para generar las pruebas necesarias y así aceptarla o rechazarla.

Una hipótesis bien redactada y planteada tiene sólo dos posibles alternativas: que sea verdadera o falsa. Si no es alguna de las dos cosas, seguramente la hipótesis está mal planteada o la situación es más compleja de lo que se había previsto y, por lo tanto, hay que volver a establecerla.

Es muy frecuente que la hipótesis se ajuste a lo largo de la investigación. Por ello se habla comúnmente de *hipótesis de trabajo*. De esta hipótesis puede haber varias versiones a lo largo de un proyecto en función de las evidencias que se vayan recolectando.

Vale la pena resaltar que la mejor y más elegante estrategia experimental es aquella con la que se puede aceptar o refutar una hipótesis *con el menor número de experimentos posible*. No hay que hacer muchos experimentos, sino sólo los cruciales, que pueden ser de todos modos numerosos. Aunque esto sólo se aprende bien con la práctica, este libro da algunas recomendaciones útiles al experimentador que inicia su carrera.

4. Construcción de leyes, teorías y modelos

Mediante la prueba de la hipótesis, los investigadores se acercan a la realidad, usualmente por aproximaciones sucesivas. La realidad es normalmente muy compleja y los experimentos que se hacen son ejemplos o casos simplificados de lo que sucede en esa realidad. Sin embargo, la ciencia no pretende sólo ser un conjunto de datos o casos, por numerosos que sean, sino que aspira a establecer la forma de funcionar del todo y las reglas generales que siguen los casos estudiados. Por ello, el último paso de *el método científico* trata de —con base en los casos particulares— construir leyes generales y eventualmente *teorías*.

Una *teoría* en ciencia, al contrario de lo que comúnmente se entiende, es una construcción de la realidad que ha acumulado muchas pruebas, que ha resistido la crítica, que puede considerarse de validez general y que ha logrado el mayor consenso entre la comunidad científica. Por eso hay relativamente pocas teorías en ciencia: la de la gravitación —de Newton—, la de la relatividad —de Einstein—, la de la evolución —de Darwin—, etcétera.

No hay que perder de vista que se investiga para entender cómo es y cómo funciona la naturaleza de la forma más general posible; a pesar de que las contribuciones específicas de un determinado proyecto de investigación puedan parecer muy pequeñas en el contexto global.

Referencias

Bunge, Mario, *La ciencia, su método y su filosofía*, Buenos Aires, Siglo XX Editores, 1989 (reimpresión México, Grupo Patria Cultural-Nueva Imagen, 2000).

Pérez Tamayo, Ruy, *¿Existe el método científico?*, México, Fondo de Cultura Económica, col. La Ciencia para Todos, 1998, 297 pp.

Pérez Tamayo, Ruy, *Cómo acercarse a la ciencia*, México, Limusa-Noriega Editores, 2001, 150 pp.

Rosenbluth, Arturo, *El método científico,* La Prensa Médica Mexicana, México, Centro de Investigación y Estudios Avanzados, 1971 [1983], 94 pp.

Lecturas adicionales sugeridas

Arana, Federico, *Método experimental para principiantes*, México, Joaquín Mortiz, 1975, 75 pp. De carácter divulgativo que ilustra cómo se puede aplicar *el método científico* a la vida diaria. Ilustra varios aspectos del trabajo experimental y proporciona ejemplos sencillos sobre trabajos de investigación.

Russell, Bertrand, "Ejemplos del método científico", en *La perspectiva científica*, Barcelona y México, Planeta-Ariel, Barcelona/México, 1992, pp. 13-34 [edición original en inglés: *The scientific outlook*, Londres, George Allen & Unwin Ltd]. En este capítulo, Russell describe las características del método científico con los ejemplos de las aportaciones de Galileo, Newton, Darwin y Pavlov.

4. VARIACIONES AL “MÉTODO”

Teorías sin observaciones, eventos inesperados, experimentos “fallidos”, errores, etcétera

La historia del descubrimiento está llena de llegadas a destinos inesperados y llegadas al destino esperado en el bote equivocado

Koestler

En los campos de la observación, el azar sólo favorece a las mentes preparadas

L. Pasteur

De acuerdo con *el método*, el proceso de investigación parecería ser totalmente planeado; sin embargo, la realidad del trabajo experimental es más humilde… e interesante.

No siempre se sigue o pueden seguirse de manera rigurosa los pasos y el orden del método, tal y como se han expuesto en el capítulo anterior. Ejemplificaremos esta aseveración con hechos bien conocidos de la física y de la astronomía en donde ha sucedido que la teoría precede a la observación del fenómeno, o que las observaciones, que en su época se creían objetivas, condujeron a graves errores de interpretación. Si bien la astronomía no es una ciencia experimental en el sentido estricto de la palabra, es una ciencia empírica porque aplica las bases del método experimental.

Descubrimiento de Neptuno (Bunge, 1989)

En palabras de Mario Bunge:

Adams y Le Verrier descubrieron el planeta Neptuno procediendo de una manera que es típica de la ciencia moderna. Sin embargo, no ejecutaron un solo experimento; ni siquiera partieron de "hechos sólidos". En efecto, el procedimiento que se plantearon fue el de explicar ciertas irregularidades halladas en el movimiento de los planetas exteriores (a la Tierra); pero estas irregularidades no eran fenómenos observables: consistían en discrepancias entre las órbitas observadas y las calculadas. El hecho que debían explicar no era un conjunto de datos de los sentidos, sino un conflicto entre datos empíricos y consecuencias deducidas de los principios de la mecánica celeste.

La hipótesis que propusieron para explicar la discrepancia fue que un planeta transuraniano inobservado perturbaba el movimiento de los planetas exteriores entonces conocidos. También podrían haber imaginado que la ley de Newton de la gravitación falla a grandes distancias, pero esto era apenas concebible en una época en que la *Weltanschauung** prevaleciente entre los científicos incluía una fe dogmática en la física newtoniana. De esta hipótesis, unida a los principios aceptados de la mecánica celeste y ciertas suposiciones específicas (referentes, entre otras, al plano de la órbita), Adams y Le Verrier dedujeron consecuencias observables con la sola ayuda de la lógica y de la matemática: predijeron el lugar en que se encontraría el "nuevo" planeta en tal y cual noche. La observación del cielo y el descubrimiento del planeta en el lugar y momento predichos no fueron sino el último eslabón de un largo proceso por el cual se probaron conjuntamente varias hipótesis.

* *Weltanschauung*: Cosmovisión || *Welt*, "mundo"; *anschauen*, "observar".

Teoría gravitacional de Einstein (de Régules, 2002)

En palabras de Sergio de Régules:

Albert Einstein propuso en 1905 la teoría especial de la relatividad para explicar ciertos resultados experimentales que no cabían en la física de su época. Hasta aquí se puede decir que la teoría de la relatividad se ajusta a lo que prescribe el método que me enseñaron en la secundaria: primero la observación del fenómeno, después la teoría. Pero luego, sin otro motivo que un deseo de generalidad —sin que hubiera observaciones previas que lo exigieran—, Einstein extendió la teoría especial de la relatividad y obtuvo una nueva teoría de la atracción gravitacional. La nueva teoría decía, entre otras cosas, que la luz debía desviarse en un campo gravitacional, fenómeno que nunca se había observado. En 1919, tres años después de la publicación de la teoría general de la relatividad, un grupo de científicos británicos confirmó esta predicción.

Los anillos de Saturno (de Régules, 2002)

En palabras de Sergio de Régules:

A principios del siglo XVII, Galileo Galilei observó los planetas con un telescopio que él mismo fabricó y concluyó que el planeta Saturno, que se veía como una manchita alargada en su telescopio, estaba formado por tres cuerpos: el planeta y dos lunas, una a cada lado, como si fueran orejas. Galileo pudo haber alegado que sus observaciones eran de lo más objetivas: las había hecho con sus propios ojos. Con todo, llegó a una conclusion errónea. Cuarenta o cincuenta años más tarde, Christiaan Huygens descubrió que lo que a Galileo le habían parecido dos lunas eran unos anillos. Galileo se dejó engañar por 1) la imperfección de su telescopio, y 2) sus ideas preconcebidas, que no daban cabida a que un planeta pudiera tener anillos.

La serendipia en la investigación

El trabajo del investigador resulta particularmente interesante, porque si bien existen normas generales para generar conocimiento, con variadas aristas en diferentes disciplinas científicas y tecnológicas, los eventos inesperados, los experimentos "fallidos", los errores, por mencionar algunos de los elementos heterodoxos, han conducido muchas veces a descubrimientos sorprendentes. En su mayoría, en la publicación científica, producto final de la investigación, no se reconoce este hecho. Con el fin de mostrar que el método puede ser tan flexible como se quiera y el investigador debe estar atento y aprovechar los sucesos inesperados, se comentará a continuación sobre la serendipia en la ciencia.

La palabra *serendipia* viene de un texto de Horace Walpole (escrito en 1754) en donde se habla de "Los tres príncipes de Serendip" (Serendip: nombre persa en el medievo de lo que actualmente es Sri Lanka, antiguamente Ceylán), los cuales "[...] siempre estaban haciendo descubrimientos, por accidente y sagacidad, de cosas que no estaban buscando [...]" (Pérez-Tamayo, 2000). Por ejemplo, uno de los príncipes, después de observar que en un camino el pasto estaba parcialmente cortado del lado derecho pero no del izquierdo, pudo deducir que el camello que pasó por ahí estaba ciego del ojo izquierdo (Van Andel, 1994).

De acuerdo con Royston Roberts —quien ha escrito un libro muy completo sobre el tema (Roberts, 1989)—, se puede hablar formalmente de dos tipos de serendipia:

- Que el objetivo de un proyecto de investigación se logra accidentalmente, llamado *pseudoserendipia*.
- O que en el curso de una investigación, se descubre algo que no tiene nada que ver con el proyecto original, llamado *serendipia*.

El origen de la fotografía —los daguerrotipos—, la vulcanización del caucho, la penicilina, la insulina y el único tratamiento efectivo para la calvicie, son algunos ejemplos muy conocidos de ambos tipos de serendipia. En algunos casos no es totalmente clara la diferencia entre ambas ya que, por ejemplo, es posible que buscando un principio activo se encuentre otro, pero relacionado al menos conceptualmente con el original.

Daguerrotipos

En 1838, L.J.M. Daguerre estaba desarrollando lo que serían los inicios de la fotografía. Había logrado poner en papel imágenes que había tomado con una cámara oscura; sin embargo, las imágenes tenían muy poco contraste y Daguerre se había dado a la tarea de buscar algo que permitiera intensificar la imagen. Queriendo usar nuevamente una imagen muy pálida, dejó la placa en un cajón donde había varios productos químicos. Cuando recogió la placa por la mañana, encontró una imagen muy intensa. Para saber cuál de los productos que había en el cajón era el responsable del efecto, descartó todos, uno por uno, hasta que se percató que en el cajón se encontraba un termómetro roto y descubrió que los responsables de intensificar la imagen eran los vapores de mercurio. Si bien el descubrimiento fue accidental, pudo llegar a la conclusión final mediante una aproximación sistemática y cuidadosa del problema.

Penicilina

El descubrimiento de la penicilina es quizá el ejemplo más conocido de serendipia, aunque en este caso, como se verá más adelante, no es claro si se trata de un caso de serendipia o de pseudoserendipia, de acuerdo con nuestra definición anterior. Fleming era un microbiólogo escocés que, entre sus líneas de investigación, estaba buscando agentes antimicrobianos no necesariamente antibióticos. Por ejemplo, había estudiado un componente de las lágrimas (la lisozima) que era un potente destructor de bacterias. En una ocasión, entre las muchas cajas (llamadas de Petri por los microbiólogos) en las que estaba cultivando bacterias, encontró una conta-

minación de un hongo. Una contaminación es algo relativamente común en el trabajo de microbiología; sin embargo, Fleming observó algo interesante: que alrededor de la colonia del hongo contaminante no crecían bacterias. Por lo tanto, pensó que el hongo era capaz de sintetizar algún compuesto que se difundía a través del agar de la caja de Petri y que evitaba el crecimiento de las bacterias. Fleming aisló el hongo, lo cultivó bajo condiciones controladas y lo enfrentó al crecimiento de bacterias. Así descubrió la penicilina: un compuesto que produce el hongo del género *Penicillium* —de allí su nombre— y que tiene la importante característica de que mata bacterias, sin causar prácticamente ningún daño a organismos superiores. Justo lo que se necesitaba para tratar infecciones bacterianas en los humanos, como lo hacían los compuestos químicos que se usaban como antimicrobianos en la época que junto con las bacterias, casi mataban al paciente. La historia del descubrimiento y posterior desarrollo de la penicilina es una historia muy interesante desde varios puntos de vista, incluyendo los de justicia y reconocimiento popular. Quienes hicieron posible que la penicilina curara pacientes y que compartieron el Premio Nobel con Fleming son prácticamente desconocidos: Ernest Chain y Howard Florey.

Insulina

Joseph von Mering y Oscar Minkowski estaban estudiando, en 1889, en Estrasburgo, Francia, la función del páncreas en la digestión. En uno de sus experimentos le extirparon el páncreas a un perro. Observaron que las moscas se acumulaban en gran número en la orina de ese perro. Normalmente las moscas son atraídas por alimentos o residuos que son ricos en azúcar. Los investigadores tenían conocimiento de ello y por eso pensaron que la orina de ese perro, por alguna razón, podría tener un alto contenido de azúcar. Como un alto nivel de azúcar es uno de los síntomas principales de la diabetes, establecieron entonces que había una relación entre alguna secreción del páncreas y la diabetes. Mering y Minkowski no descubrieron la insulina, pero determinaron su función ¡incluso antes de descubrirla! La insulina no se identificó hasta 1921.

Minoxidil (tratamiento para la calvicie)

El minoxidil es el compuesto activo de un producto que en las farmacias se conoce como *Regaine* y que es producido por la empresa Pfizer. El minoxidil era un compuesto activo que la empresa estaba probando para tratar la hipertensión arterial. Durante las pruebas clínicas, un médico reportó un hecho curioso, aunque aparentemente intrascendente: a uno de los pacientes, que era parcialmente calvo, que estaba siendo tratado con minoxidil, le empezó a crecer el pelo. El médico se preguntó qué pasaría si la misma droga se aplicara tópicamente. Hizo el experimento bajo condiciones controladas y descubrió que, en efecto, el minoxidil promovía el crecimiento de cabello. Posteriormente se hicieron experimentos con un gran número de pacientes. Actualmente, el minoxidil es la única droga aprobada por las autoridades regulatorias de Estados Unidos (la *Food and Drug Administration*) que reconoce que es útil para algunos tipos de calvicie.

Dos ejemplos de serendipia ocurridos en el laboratorio del autor

La mayor producción de una enzima que se logró… "sin hacer nada"

Un estudiante de maestría desarrollaba su tesis sobre la producción de la penicilino-amidasa, una enzima que se usa en el proceso de manufactura de penicilinas semisintéticas, como la ampicilina. Esta enzima estaba siendo producida por la bacteria *Escherichia coli* (un microorganismo muy conocido y usado en biotecnología), cultivada en un fermentador de laboratorio. El estudiante medía la concentración de la enzima (a través de su actividad) a lo largo del tiempo de cultivo y observaba cómo se incrementaba de acuerdo a lo esperado (figura 4.1).

Normalmente se deja cultivar la bacteria unas ocho horas, hasta que agota el azúcar que se le proporciona como "alimento". Una vez que el azúcar se agota, el cultivo normalmente se detiene, ya que, sin azúcar, la bacteria no puede multiplicarse más. Sin embargo, dado que el estudiante había iniciado el experimento después del mediodía, cuando se agotó el azúcar era ya muy tarde por la noche y el estudiante no quiso tomarse la molestia de desconectar todo el equipo y lavar el fermentador y sus accesorios, por lo que dejó conectado todo el sistema (que incluye el burbujeo de aire que proporciona oxígeno a la bacteria en desarrollo) hasta la siguiente mañana.

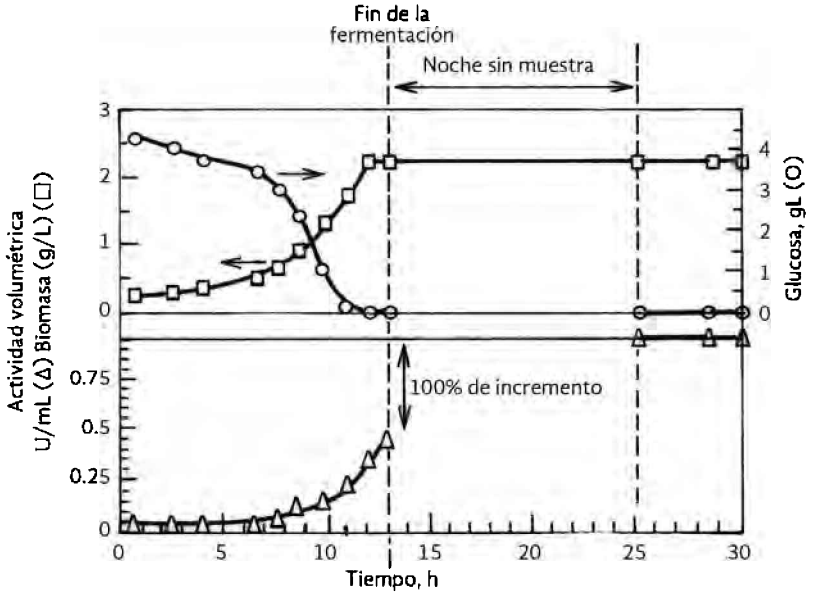


Figura 4.1 Evolución de la concentración de una enzima (penicilino amidasa) producida por la bacteria *E. coli*.

A la mañana siguiente, el estudiante tomó una muestra del cultivo, que también analizó. El estudiante se sorprendió —y su asesor aún más— cuando, al analizar los datos, la concentración de la enzima se había incrementado a más del doble durante la noche, cuando en el cultivo ya no había azúcar y, por lo tanto, tampoco había posibilidad de que la bacteria se siguiera reproduciendo. El asesor, naturalmente, le indicó al estudiante que repitiera el experimento, ya que seguramente se trataba de un error. El estudiante repitió varias veces el experimento y demostró que no se trataba de un error. ¿Cuál era entonces la razón del fenómeno? La respuesta tuvo que esperar cerca de un año, cuando se publicó un artículo en la literatura científica en donde se demostraba que la penicilino-amidasa, cuando era producida por *Escherichia coli* (modificada genéticamente) se producía primero como un precursor —insoluble y por lo tanto sin actividad enzimática— que luego se transformaba en la enzima activa. El paso más lento —y por lo tanto, limitante del proceso global— era la transformación del precursor en la enzima activa. Lo que el estudiante descubrió, por serendipia, fue que, bajo condiciones de alto oxígeno disuelto (que se lograron porque el burbujeo no se había suspendido durante la noche), la transformación del precursor se maximiza. En otras palabras, la enzima ya estaba ahí

durante el cultivo, pero el estudiante no la detectó ya que era insoluble y estaba inactiva. Al dejar el cultivo con aireación toda la noche, se permitió que el precursor —insoluble— se transformara, muy eficientemente, en la enzima activa, lo cual detectó en la muestra que tomó por la mañana. Si el estudiante no hubiera terminado el experimento tan tarde, lo más probable es que hubiera desmantelado y lavado el equipo y no se hubiera descubierto el fenómeno (al menos en ese momento). Asimismo, si el estudiante no hubiera tomado una muestra por la mañana o hubiera decidido desconectar el fermentador —y por lo tanto, no seguir burbujeando aire— , lo más probable es que tampoco se hubiera observado el fenómeno.

Un mezclador que mezcla mejor... si NO *se usa como lo indica su fabricante*

El autor, cuando era estudiante, estaba experimentando la forma de mezclar de la manera más eficiente posible una solución muy viscosa (parecida a los geles para el pelo) en un tanque que contenía el líquido viscoso y un agitador en forma de "ventilador" (figura 4.2). El agitador, de acuerdo con su fabricante, debe girar de tal forma que cuando está en movimiento, el líquido se mueva (o "bombee") hacia el fondo del tanque. El investigador que supervisaba el trabajo le sugirió al autor que probara el mismo agitador pero de tal manera que el líquido ahora se moviera en la dirección opuesta. La razón era que había antecedentes de otros agitadores que, cuando "bombean hacia arriba", eran más eficientes. Para lograr que el agitador en cuestión hiciera lo que sugería el supervisor era necesario desmontarlo, invertirlo, volverlo a montar y volver a llenar el tanque con el líquido viscoso, para después hacer el experimento. El autor, antes de llevar a cabo ese complicado y tedioso proceso, se percató que la dirección de giro del agitador se podía cambiar muy fácilmente, simplemente invirtiendo la polaridad de la corriente eléctrica que se suministraba al motor que hacía girar al agitador. Ya que todo el sistema estaba montado, decidió hacer ese sencillo experimento. Desde luego, el agitador no estaría propia y ortodoxamente "bombeando hacia arriba", sino que era una especie de "bombeo hacia arriba" pero con una inclinación diferente de las aspas del agitador. Al hacer los experimentos, el autor demostró que, para la misma energía aplicada, cuando el agitador se operaba en la dirección "no convencional", el volumen que el agitador era capaz de mezclar era hasta 1.5 veces mayor respecto a la forma que el fabricante del agitador especificaba que se tenía que operar.

Figura 4.2 Mezclador operando bajo las condiciones indicadas por el fabricante y bajo condiciones "no ortodoxas".

¿Cuán importante es la serendipia en ciencia?

Hay algunos datos que indican que la serendipia es más común de lo que nos imaginamos y de lo que muchos científicos están dispuestos a reconocer. Por ejemplo, se sabe (Campanario, 1996) que al menos 19 premios Nobel lo obtuvieron por descubrimientos asociados a la serendipia. También está documentado (Campanario, 1996) que 8.3% (17) de los 205 artículos más citados de la historia reconocen algun tipo de serendipia.

Seguramente estos números pueden ser muy conservadores, ya que "…la historia de la ciencia sólo registra finales felices…". La forma como se escriben los artículos científicos (que normalmente no incluyen datos anecdóticos ni se describe con detalle la forma, a veces errática, de conseguir el resultado final) hace que los accidentes y la serendipia —cuando suceden— no sean evidentes en los informes de trabajos de investigación.

Si bien la serendipia no juega el papel principal en el desarrollo de la investigación, ni se puede planear tal cosa, hay que estar alerta, como Pasteur —con la mente preparada— para descubrir y sacarle provecho a los accidentes que, una vez descubierta su razón, resultan muy afortunados.

¿Accidente o descubrimiento?

Para aprovechar ciertos accidentes en descubrimientos, hay al menos que:

- Estar preparado para lo no esperado.
- Recordar que no esperado no significa, necesariamente, que es erróneo.
- Se debe saber qué esperar para notar lo no esperado.
- Para descubrir algo realmente nuevo no basta la deducción, que sólo extiende el conocimiento existente.
- Estar conscientes, como lo dijo Albert Szent-Gyorgyi, de que "el descubrimiento consiste en ver lo que todos han visto y pensar lo que nadie ha pensado".

Referencias

Bunge, Mario, *La ciencia, su método y su filosofía*, Buenos Aires, Siglo XXI Editores,1989 [reimpresión México, Grupo Patria Cultural-Nueva Imagen, 2000].

Campanario, J. M., "Using Citation Classics to Study the Incidence of Serendipity in Scientific Discovery", *Scientometrics*, vol. 37, núm. 1, 1996, pp. 3-24.

De Régules, Sergio, "¿Método? ¿Cuál método?", *¿Cómo ves?*, año 4, núm. 40, marzo de 2002, pp. 22-23.

Pérez Tamayo, Ruy, "Serendipia", en *Serendipia. Ensayos sobre ciencia, medicina y otros sueños*, México, Siglo XXI, 5ª ed., 2000, pp. 134-162.

Roberts, Royston, M., *Serendipity. Accidental Discoveries in Science*, Wiley Science Editions, 1989, 270 pp.

Van Andel, Pek, "Anatomy of the Unsought Finding. Serendipity: Origin, History, Domains, Traditions, Appearences, Patterns and Programmability", *British Journal of Philosophy of Science*, núm. 45, 1994, pp. 631-648.

Lecturas adicionales sugeridas

Hernández García, Rosa María, "El descubrimiento de la insulina", *¿Cómo ves?*, año 7, núm. 79, junio de 2005, pp. 26-28. Artículo de divulgación que cuenta la historia del descubrimiento de la hormona insulina.

Lax, Eric, *The Mould in Dr. Florey's Coat*, Londres, Little Brown, 2004, 389 pp. (<www.twbg.co.uk>). Este libro relata la

historia del descubrimiento de la penicilina (por Fleming) y el extraordinario, tortuoso, pero menos conocido camino hasta su producción industrial que permitió su uso terapéutico a gran escala (por Florey, Chain y Heatley).

Lenox, Ronald S., "Educating for the Serendipitous Discovery", *Journal of Chemical Education*, vol. 62, núm. 4, 1985, pp. 282-285. Artículo en que se plantea que es posible y se debe educar a los estudiantes para que se beneficien de los diferentes modos de descubrimiento, en donde la serendipia debe reconocerse como uno de ellos.

López Munguía, Agustín, "La buena fortuna de Alexander Fleming", *¿Cómo ves?*, año 2, núm. 16, marzo de 2000, pp. 26-28. Artículo de divulgación que describe cómo se descubrió la penicilina, fruto tanto de la buena suerte como de la capacidad de observación de Alexander Fleming.

Russell, Bertrand, "Limitaciones del método científico", en *La perspectiva científica*, Barcelona y México, Planeta-Ariel, 1992, pp. 60-70 [ed. original en inglés, *The scientific outlook*, Londres, George Allen & Unwin Ltd., 1949). Russell analiza en este capítulo las dudas sobre la validez de la inducción, la dificultad de hacer inferencias de lo que ha sido experimentado a lo que no lo ha sido y lo extremadamente abstracto que pueden ser tales posibles inferencias.

Zins, Gerald R., "The History of the Development of Minoxidil", *Clin. Dermatol*, vol. 6, núm. 4, 1988, pp.132-147. Relata la historia del descubrimiento y desarrollo del minoxidil para el tratamiento de la calvicie.

4. VARIACIONES AL "MÉTODO"

Teorías sin observaciones, eventos inesperados, experimentos "fallidos", errores, etcétera

Para cuando yo termine de estudiar, ya estará todo descubierto...

Francis Crick a la edad de 14 años.
Crick fue el co-descubridor del ADN y Premio Nobel.

No sé lo que podré parecer al mundo, pero yo me veo a mí mismo únicamente como si hubiese sido un niño que juega en la orilla del mar, y que se divirtió encontrando de vez en cuando un guijarro más liso y una concha más bella que las normales, mientras que el gran océano de la verdad permanecía sin descubrir ante él

Isaac Newton

¿Qué investigo?

Ésta es una pregunta fundamental para quien pretende iniciar un trabajo de investigación. Es válida en todos los niveles: desde el estudiante de educación preuniversitaria que tiene que decir qué investigará para presentar en la feria de ciencias de su escuela, hasta el estudiante de doctorado que tiene que definir el tema de su tesis. Independientemente del nivel de que se trate, para iniciar un trabajo de investigación se deben cubrir los siguientes criterios:

1. Debe ser INTERESANTE para el estudiante.
2. Tiene que ser ORIGINAL.
3. Debe ser VIABLE para llevarse a cabo en el tiempo del que dispone el estudiante para la investigación.
4. Debe poder hacerse con los RECURSOS DISPONIBLES en el laboratorio en cuestión.
5. Debe contar con SUPERVISIÓN por parte de alguien que tenga conocimiento del tema.

La investigación se lleva a cabo generalmente cuando se desarrolla una tesis para obtener el título profesional o de posgrado (véase también el caso de nivel preuniversitario en el capítulo 14, p. 159). Es común que el estudiante busque a un investigador o asesor que trabaje en temas de su interés y decida el tema específico que desarrollará. Usualmente, los investigadores o asesores dan opciones a los estudiantes, casi siempre dentro de los temas que investigan en ese momento.

El proceso de definición final de un tema de investigación sigue idealmente el siguiente esquema:

a) El estudiante, con base en su formación e intereses, busca a uno o varios asesores que trabajen en esos temas. Los potenciales asesores pueden ser identificados ya sea por contactos personales del estudiante y, con mayor frecuencia, a través de otros estudiantes más avanzados o de profesores, por búsqueda en Internet o por cualquier otro medio.
b) El estudiante típicamente se entrevista con uno o varios investigadores, que le exponen sus líneas de investigación.
c) Con base en los intereses académicos, disponibilidad de lugar físico, los compromisos en ese momento del laboratorio así como el interés del estudiante, el asesor propone uno o varios temas potenciales, que son analizados con mayor detalle por el estudiante. Esto generalmente se lleva a cabo proporcionando al estudiante la literatura básica sobre el tema, en particular lo desarrollado previamente en el laboratorio.
d) Una vez decidida la temática general, de común acuerdo entre el asesor y el estudiante, éste iniciará el proceso de revisión exhaustiva de la literatura científica (véase capítulo 6, p. 51) y la elaboración de un protocolo de investigación (véase capítulo 7, p. 57).

Desde luego, hay múltiples situaciones que pueden hacer que este proceso no se desarrolle como se ha planteado anteriormente. Por ejemplo, hay instituciones en donde los alumnos se "asignan" a los asesores disponibles en términos de una política local de la institución. Hay otros casos en donde los propios estudiantes proponen temas nuevos a los asesores (sobre todo en el caso de doctorado) y que en algunos casos han resultado en proyectos muy innovadores y de alto impacto. En el caso de investigación en las empresas, los investigadores generalmente siguen los temas decididos (en algunos casos con su participación) por la administración y políticas de la propia empresa.

El proceso por el que finalmente se decide un tema específico de investigación es siempre un COMPROMISO, entre los intereses y necesidades del laboratorio y la motivación y determinación del estudiante.

Tiempos típicos de ejecución de un trabajo experimental

Para el caso de una tesis de licenciatura o pregrado, el tiempo razonable para desarrollarla es de un máximo de un año. Para el nivel maestría, en programas que involucran trabajo experimental, se requiere entre uno y dos años para desarrollarla. A nivel doctorado, el tiempo de desarrollo es de entre tres y cinco años, donde puede incluirse la maestría.

En la tesis de licenciatura (desafortunadamente cada vez menos requerida por las universidades como requisito de graduación), se entrena al estudiante dándole experiencia práctica mediante el planteamiento —y resolución— de algún problema técnico específico. Es común que la tesis de licenciatura sea la primera vez en la que un estudiante se enfrenta a un problema práctico y escriba un reporte integral (la tesis) respecto a cómo lo resolvió. Parece difícil pensar en algún otro de los requisitos actuales para titularse de licenciatura, que pueda proporcionar una experiencia semejante, sin duda muy apreciada por quienes contratan personal.

En la maestría, el estudiante desarrolla habilidades para resolver un problema muy concreto y acotado de investigación, mientras que en el doctorado se desarrollan habilidades para planear y desarrollar investigaciones de manera independiente.

Las universidades más prestigiadas establecen como requisito para obtener el grado de doctor que el estudiante publique un artículo científico como primer autor, en revistas reconocidas de su área a nivel interna-

cional. Aunque parezca paradójico, el tema de investigación es sólo un medio para entrenar al estudiante en las metodologías, rigor y formalidades para hacer ciencia de calidad. Un doctor en Ciencias, en Filosofía —*Philosophy Doctor*, *PhD*— según el concepto anglosajón, debe ser capaz de hacer investigación en prácticamente cualquier campo de las ciencias. La única limitación es lo vasto del conocimiento que lo obliga a concentrarse y especializarse en un campo en particular.

Tan importante como el tema es la elección del asesor, director o supervisor de tesis. De hecho, el tema (cuando menos en términos generales) está asociado directamente al asesor. Los estudiantes deben cuidar el proceso y considerar la carrera del investigador, sus logros, su capacidad para conseguir fondos y, sobre todo, la productividad científica, medida por la cantidad y calidad de artículos publicados en revistas científicas de prestigio internacional. Un indicador útil es la frecuencia con que los estudiantes del investigador son coautores de sus publicaciones. Esto indica el grado de involucramiento del investigador con estudiantes y el nivel de investigación desarrollada. Esta información se encuentra por lo general en las páginas web de centros de investigación. Si la información no se encuentra disponible, el estudiante puede y debe preguntar a su futuro tutor. Las mejores fuentes de información sobre la calidad de un investigador son sus estudiantes anteriores. La empatía estudiante-asesor es un aspecto que puede ser muy relevante en el desarrollo de la tesis.

Hay una actividad en la cual una persona recien graduada de doctor lleva a cabo investigación que no lo lleva a obtener un posgrado propiamente dicho, sino más bien a desarrollar investigación de tiempo completo: la posición posdoctoral o "posdoc". Hacer un "posdoc" es cada vez más frecuente y muy recomendable para quienes han terminado el doctorado y desean desarrollar una carrera de investigación. Se lleva a cabo en una institución diferente a la del doctorado y generalmente sobre un tema de investigación diferente. El trabajo posdoctoral dura generalmente uno o dos años y puede extenderse de tres a cinco años. A nivel internacional, en la investigación altamente competitiva de frontera y de alta calidad, participan muy activamente los "posdocs", sobre todo porque tienen el entrenamiento y el tiempo para dedicarse exclusivamente a resolver un problema específico de investigación. Generalmente se obtiene una beca equivalente a un puesto de investigador en sus primeros niveles, que, dependiendo de la institución pueden denominarse "investigadores asociados" o "investigadores asistentes". La elección del tema para el trabajo de investigación posdoctoral tiene que ver con la trayectoria y prestigio del investigador o asesor. Las preferencias y ambiciones académicas del estudiante juegan también un papel muy importante.

Lecturas adicionales sugeridas

Pérez Monforte, Ruy, *Reflexiones matutinas sobre la investigación científica. Viernes 10, 7:00 AM*, México, Fondo de Cultura Económica, col. Popular, núm. 511, 1994. En el capítulo XI ("¿Sobre qué tema hacer la investigación científica?"), el autor plantea sus puntos de vista sobre este asunto, aplicables sobre todo para el estudiante de posgrado.

6. LA ORIGINALIDAD

Revisión de la literatura

Los hombres que no conocen su historia
están condenados a repetirla
Victor Hugo

Uno de los requisitos —y atractivos— de la investigación científica es la originalidad de los temas. La única forma de saber y justificar que un tema es original, aunque sea de enfoque, es revisando la información previa sobre el tema. En primera instancia es conveniente describir brevemente cómo se genera y divulga el conocimiento científico y cuáles son, en consecuencia, las fuentes más fiables.

Fuentes primarias

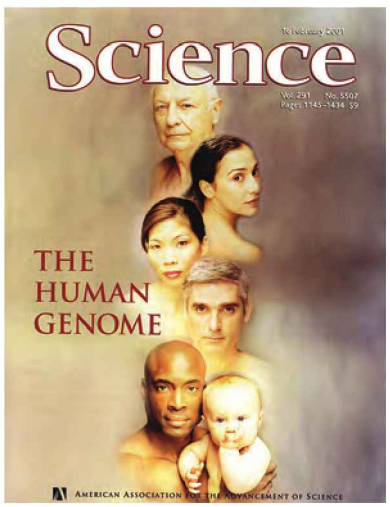
El proceso de investigación científica tiene controles de calidad muy estrictos. Es justamente lo que le ha dado su prestigio, aunque los procedimientos no sean conocidos salvo por un sector pequeño de la población. El procedimiento se puede resumir en los siguientes pasos:

1. Se lleva a cabo la investigación y se obtienen resultados originales.
2. Se escribe un *manuscrito* que detalla qué se hizo, cómo se hizo y cuáles fueron las aportaciones.
3. El manuscrito se envía a una revista científica para revisión y eventual publicación.
4. En la revista, el manuscrito se envía a varios, mínimo dos, revisores, para que juzguen si el trabajo es original, si estuvo bien hecho y si está bien escrito. Los revisores son otros investigadores que tienen experiencia en el tema y sus nombres no se revelan al autor del manuscrito.
5. Los revisores emiten una opinión sobre la originalidad y el rigor del trabajo descrito en el manuscrito. Habitualmente dan sugerencias para que el trabajo mejore.
6. El editor, basado en los dictámenes de los revisores, decide si:

   – el manuscrito es aceptado sin ningún cambio
   – el manuscrito podría ser aceptado si se incorporan correcciones menores,
   – el manuscrito podría ser aceptado siempre y cuando se incorporen correcciones mayores, en cuyo caso el editor envía nuevamente a evaluar el manuscrito una vez corregido,
   – el manuscrito es rechazado.

7. Una vez aceptado el manuscrito, se envía a correcciones de estilo y formato para ser publicado, en forma electrónica o en papel, o en ambos.
8. Una vez publicado, el *artículo* está disponible para su consulta a nivel internacional y se puede citar como referencia.

Portada reproducida con permiso de *Nature Publishing Group* y de Ann Cutting.



Portada reproducida con permiso de la American Association for the Advancement of Science (AAAS).

La información publicada tuvo que haber sido juzgada por algunos miembros especialistas de la comunidad científica y se asegura que cumplió con requisitos de rigor metodológico y de originalidad. Para dar una idea del rigor de este procedimiento, el nivel de aceptación de manuscritos de una revista de prestigio se encuentra entre el 10 y el 30%. ¡Las revistas rechazan entre siete y nueve de cada diez manuscritos que reciben! Así la ciencia hace el "control de calidad" sobre su principal producto: el conocimiento.

Hay algunas revistas que no cumplen con estos criterios de calidad. Éstas, por lo general, no cuentan con comités editoriales serios o son medios para publicar trabajos de una comunidad local evaluada internamente con bajos niveles de exigencia y calidad. Para distinguir una revista seria y de relevancia hay un sistema que pretende medir el "impacto" de una revista en términos de las veces que es usada como referencia —en un periodo de tiempo— por autores que publican en otras revistas. A esto se le llama *factor de impacto* y en general es aceptado que las revistas con un mayor valor de este factor son las de mayor relevancia, no sólo por ser las mas leídas, sino porque en general tienen los estándares de calidad más altos.

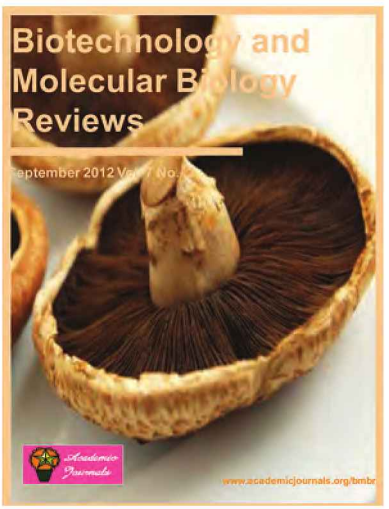
*Las revistas científicas con arbitraje son la única fuente de información confiable que acepta la mayoría de los científicos.** Estas revistas son muy especializadas y fundamentalmente leídas por otros científicos de la misma especialidad. Existen alrededor de 23 000 (al año 2008) revistas científicas reconocidas en todos los campos del conocimiento. Entre las revistas de mayor rigor e impacto se encuentran: *Science* (Estados Unidos) y *Nature* (Inglaterra). Estas revistas son multidisciplinarias, esto es, aceptan trabajos de todas las ramas de las ciencias naturales y se publican una vez a la semana. Un gran logro de un científico es publicar en alguna de estas dos revistas que incluyen trabajos muy relevantes, rigurosamente hechos y del mayor nivel e interés internacional. Además, su factor de impacto es de los más altos de las revistas científicas.

La cantidad de información publicada en revistas científicas es extraordinariamente abundante. Anualmente se publican alrededor de 1.4 millones de artículos científicos de nivel internacional (Association of STM Publishers, 2006) producidos por cerca de 5.5 millones de científicos, según estimaciones de la UNESCO (UNESCO, 2005). Esta cantidad está creciendo a un ritmo anual de cerca del 3%. Este inmenso volumen de información es prácticamente imposible de seguir. Se han desarrollado, como alternativa, otros medios que contienen sólo resúmenes o títulos de artículos en áreas específicas del conocimiento. Las revistas de resúmenes o títulos son muy usadas ya que informan de lo que está apareciendo en un determinado campo del conocimiento. Algunos ejemplos conocidos son *Chemical Abstracts* y *Current Contents*, aunque hay una variedad muy grande en cada área.

* Existen, por ejemplo, áreas muy dinámicas de la Ingeniería y Matemáticas en las que las memorias de congresos (también rigurosamente arbitrados) son aceptados por la comunidad como fuente de información muy confiable.

Fuentes secundarias

Es común que se publiquen también artículos que no aporten ninguna información novedosa específica, sino una revisión de lo anteriormente publicado. A estas publicaciones se les llama revisiones o *reviews*, y son útiles para adentrarse en un campo y para conocer su "estado del arte". Normalmente son publicadas por científicos reconocidos del campo, usualmente invitados por el editor. Las revisiones se encuentran generalmente en revistas que publican información primaria. También hay revistas o libros editados periódicamente, que publican exclusivamente revisiones. Tienen títulos como *Current Progress in…*, *Advances in…*, etc. Son muy especializados e incluyen una introducción general del tema, información que ayuda a definir el "estado del arte", esto es, lo que se conoce y lo que no se conoce en una determinada área.



Portada reproducida con permiso de la editorial.

Cómo hacer una revisión bibliográfica

Consiste en localizar y analizar las fuentes de información primaria más relevantes y actuales con relación al tema. Incluye los siguientes pasos:

1. Comienza con la lectura de algún artículo reciente sobre el tema, proporcionado por el director o asesor de la tesis.
2. Se buscan las revisiones más recientes del campo. Los investigadores que trabajan en una cierta línea, publican ocasionalmente revisiones exahustivas, analíticas y críticas de un determinado campo. Muchos son conocidos porque han publicado buenas revisiones sobre algún tema. Es común que los estudiantes de doctorado, como parte de su tesis, revisen la literatura del tema y la publiquen como revisión. Las revisiones o *reviews* son una forma muy útil para conocer los aspectos ya estudiados en un tema y, sobre todo, los que NO se han estudiado hasta el momento.
3. Se identifican los artículos recientes o las revisiones, que se presentan como referencias que pudieran ser relevantes.
4. Identificar, en su caso, a los investigadores o grupos más importantes en el tema de interés.
5. Cuando se tiene esta información —y no antes— es el momento más productivo para hacer una revisión electrónica en bases de datos, tomando palabras claves como base. La selección depende del acceso que se tenga a ellas en la institución en donde se lleva a cabo la investigación. Las bases de datos Scopus, Scirus, Google Scholar, Web Of Science, Pubmed y Science-Direct son las más conocidas y pueden estar disponibles en la institución del estudiante o investigador. Generalmente identifican artículos por título y autor y su búsqueda es en función de éstos. Primero se trata de buscar resúmenes. Si resultaran interesantes y relevantes, entonces se buscan los artículos completos. A veces es conveniente hacer la búsqueda por autores, para seguir la línea del trabajo de un grupo de investigación.
6. Finalmente se consiguen los textos completos de los artículos relevantes e importantes. Esta parte es la más laboriosa, costosa y lenta, sobre todo en donde el acceso a la información electrónica es limitado. Existen varias formas para conseguir un artículo original:

– Leerlo en la revista, si se encuentra en papel, o imprimirlo si está disponible electrónicamente.
– En caso de no estar disponible en la biblioteca local, el procedimiento es solicitarlo por préstamo interbibliotecario a otras bibliotecas con las que se tengan convenios.
– Existen bancos de información, generalmente de las editoriales comerciales que publican las revistas científicas, en donde es posible solicitar, con un determinado costo, los artículos de interés. Un artículo llega a costar entre diez y sesenta dólares.
– Solicitarlo directamente al autor. Es una forma rápida y barata, sobre todo cuando se tiene el correo electrónico del autor responsable. A los autores les es muy satisfactorio recibir solicitudes de sus publicaciones, ya que esto demuestra que su trabajo está siendo leído y teniendo impacto. El autor generalmente envía, cada vez más frecuentemente, los artículos solicitados por vía electrónica.

Es conveniente revisar los trabajos recientes y no publicados del laboratorio en donde se lleva a cabo la investigación y relacionados con el tema. Entre ellos se incluye:

– tesis previas desarrolladas en el laboratorio
– presentaciones en congresos recientes
– informes internos o externos de avance de proyectos
– manuscritos enviados para su publicación
– testimonios orales de expertos.

Una buena revisión de la literatura no es aquella en que se encuentra *toda* la información, sino en la que se analizan críticamente las referencias *relevantes* para el tema a tratar. El resultado principal de la revisión bibliográfica es convencer, sobre todo al investigador que está por iniciar su trabajo, en relación con los aspectos que se han estudiado sobre un tema e identificar los "huecos" de información y áreas de oportunidad para poder ser original.

Referencias

Association of STM (Scientific, Technical and Medical) Publishers, *The Scale of STM Publishing*, 2006.
UNESCO, *UNESCO Science Report 2005*, p. 17, <www.stm.assoc.org>.

Lecturas adicionales sugeridas

Davis, Martha, *Scientific Papers and Presentations*, San Diego y Londres, Academic Press, 1997, 295 pp. El capítulo 4, "Searching and Reviewing Scientific Literature", pp. 31-41, cubre el tema de la búsqueda y análisis de la literatura científica.

6. LA ORIGINALIDAD

Revisión de la literatura

Nadie puede llegar a ningún lado si no sabe a dónde quiere llegar

Anónimo

Cuando un hombre sabe a dónde va, el mundo se abre para darle paso

Abraham Maslow

Una creencia bastante difundida es que los descubrimientos científicos son el resultado de actos aislados y repentinos de iluminación o bien de golpes de suerte del investigador. No puede estar más alejada de la realidad. Es posible que a lo largo de un proyecto se lleguen a encontrar resultados inesperados. Sin embargo, la investigación es un proceso que debe planearse. La investigación no se improvisa. La premisa básica de que no se puede llegar a ningún destino si no se sabe adónde se quiere llegar, es particularmente cierta en el trabajo de investigación. En el camino a una meta, posiblemente se encuentren hechos o circunstancias que modifican la meta original; sin embargo, nunca se habría encontrado la nueva meta si no se hubiera seguido un plan para lograrla.

El plan se llama "proyecto" o "propuesta de investigación" y su elaboración es fundamental en todo trabajo científico. *El proyecto tiene que convencer al que lo escribe y a terceras personas de que el proyecto es original, de alta calidad y con alta probabilidad de lograr sus objetivos.*

Una buena parte de lo que hacen los investigadores profesionales es, justamente, escribir proyectos de investigación. Los científicos tienen que convencer a las instituciones de financiación (normalmente agencias del gobierno, fundaciones, empresas, etc.) de que su proyecto vale la pena ser desarrollado. Para seleccionar los proyectos que recibirán apoyo económico, las agencias financiadoras se basan fundamentalmente en lo que se escribe en un proyecto. Es evidente, en consecuencia, lo importante que resulta la elaboración de un buen documento que describa el proyecto. En promedio, se apoyan sólo uno o dos de cada diez proyectos de investigación que reciben las agencias financiadoras. Por ello, la elaboración del proyecto es un paso crucial para conseguir recursos que permitan el desarrollo del mismo. Hacer investigación es una actividad costosa, sobre todo la de carácter experimental.

En el caso de los estudiantes, el proyecto tiene el objetivo adicional de convencer a comités académicos de que vale la pena y de que puede hacerse con los recursos, infraestructura y tiempo disponibles.

Conceptualmente hablando y de forma general, el proyecto tiene que decir, de la forma más clara, convincente y detallada posible:

– lo que se va a hacer
– por qué se va a hacer
– cómo se va a hacer
– quién lo va a hacer
– en cuánto tiempo se va a hacer

– su originalidad
– qué se pretende lograr
– cuán factible será lograrlo
– cuánto costará.

Habrá diferencias dependiendo de si se trata de un proyecto a largo plazo o uno estudiantil para desarrollar la tesis de pregrado (o licenciatura) o posgrado. Sin embargo, la idea básica es la misma y sólo se diferencia en el grado de especialización de los temas, en la complejidad de las metodologías y en los costos involucrados.

Para un estudiante, en particular de doctorado, la originalidad es un aspecto fundamental y los costos son mayores, ya que el proyecto tiene objetivos más ambiciosos y a largo plazo, mientras que, por ejemplo, los de pregrado y maestría, generalmente forman parte de un proyecto de mayor envergadura, que fue solicitado y aprobado, en su caso, por un científico profesional, con base en el proyecto que presentó el investigador responsable ante una instancia de financiamiento.

Elementos de un proyecto

La figura 7.1 enlista los principales elementos que debe contener un proyecto de investigación. Son los más comunes y son sólo indicativos. El estudiante o investigador debe atender los requerimientos específicos que cada fondo, comité académico o asesor, indique como más adecuados para cada proyecto en particular.

Los elementos principales de un proyecto de investigación, son:

Portada

Debe incluir el TÍTULO del proyecto, NOMBRE de los investigadores, doctorandos o estudiantes responsables, el ASESOR o LÍDER del proyecto, la INSTITUCIÓN de adscripción de los responsables, el FONDO, FUNDACIÓN o COMITÉ al que se presenta el proyecto y la FECHA de presentación.

El título del proyecto es mucho más importante de lo que se reconoce habitualmente. Un título claro, conciso, preciso y atractivo, llamará más la atención de los evaluadores y aumentará las posibilidades de que sea aprobado o bien calificado. En los fondos de apoyo a la investigación es común que la selección de evaluadores para proyectos se haga casi exclusivamente con base en el título del proyecto. Con un título vago, impreciso y poco atractivo, se le asignarán árbitros menos adecuados, que no sean conocedores del tema o puedan apreciar las bondades del proyecto. Por increíble que parezca, como evaluador y como miembro de comités que asignan evaluadores, he encontrado proyectos ¡con faltas de ortografía en el título!

Es muy importante que el título refleje fielmente el contenido y alcance del proyecto. Hay ocasiones en que el título parece claro, preciso y atractivo, pero ¡no tiene nada o poco que ver con el contenido del proyecto!

Si bien el título de un proyecto es el inicio del documento, es posible que sea lo último que se decida. Se recomienda hacerlo por aproximaciones sucesivas, esto es, iniciar la escritura del título en una versión preliminar y ajustarlo en función del resto del proyecto. No es raro iniciar con un título y terminar, al presentar la versión final del documento, con otro que puede ser radicalmente diferente del primero. Lo importante es que sea claro, preciso, atractivo y que refleje fielmente el contenido y alcance del proyecto. Además, es recomendable que el título sea lo más corto posible, sin que se sacrifique la claridad y la precisión.

- **Portada**
  - Título del proyecto
  - Integrantes del grupo de investigación
  - Investigador principal o responsable (asesor en el caso de tesis o proyectos escolares)
- **Introducción**
  - Definir y justificar el tema
- **Antecedentes**
  - Revisión crítica de la información (literatura) disponible sobre el tema (culminar justificando la novedad de la investigación y/o el enfoque)
- **Hipótesis**
- **Objetivos**
  - General
  - Específico
- **Metodología**
  - Lugar (laboratorio)
  - Materiales
  - Equipo (instrumental)
  - Metodologías (de análisis, medición, etc.)
  - Diseño experimental
    - Variable(s) dependiente e independiente
    - Niveles de las variables a experimentar
    - Número de experimentos (repeticiones)
    - Análisis/procesamiento (estadístico) de los datos
- **Cronograma de actividades**
  - Diagrama de barras (gráfica de Gantt)
- **Costos estimados y financiación del proyecto**
- **Resultados esperados**
- **Bibliografía** (específica)

Figura 7.1 Elementos que típicamente contiene un proyecto de investigación.

Resumen

Es un elemento importante en cualquier proyecto porque da al evaluador una idea rápida de lo que trata el proyecto. Después del título, el resumen es el elemento de mayor importancia para una adecuada evaluación del proyecto. Para un evaluador con experiencia, la sola lectura del resumen le permitirá apreciar los elementos e identificar rápidamente un proyecto deficiente. Usualmente, el resumen es lo primero que se lee en un proyecto pero se llega a él por aproximaciones sucesivas (véase figura 7.2, p. 60). Su escritura puede servir para ordenar las ideas sueltas con las que la mayor parte de los proyectos se gestan. Si se tiene la capacidad de escribir esas ideas sueltas en un texto breve, aunque sea preliminar, es más fácil escribir los detalles del proyecto. Todo buen proyecto inicia con una buena idea. Escribir el resumen es empezar a darle forma a esa buena idea.

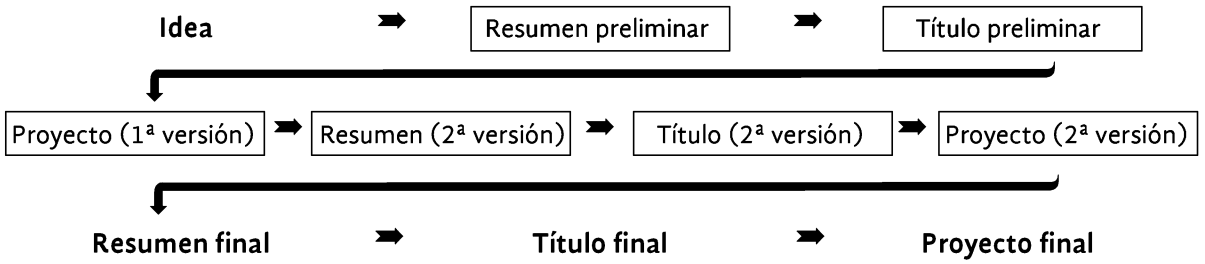


Figura 7.2 Línea de acción muy común en la escritura de proyectos de investigación.

El resumen puede llegar a tener variaciones, dependiendo del estilo personal y se pueden requerir varias versiones para llegar al proyecto final. Hay quienes prefieren escribir una versión preliminar del proyecto en extenso, pulirlo, y finalmente decidir el título y escribir el resumen. Si bien debe haber personas brillantes capaces de escribir un buen proyecto (y su resumen) desde la primera versión, la mayor parte escribe sus proyectos por aproximaciones sucesivas. Los elementos que debe contener un buen resumen, son:

– No debe ser más de una página ("cuartilla").
– No debe contener partes copiadas textualmente del texto del protocolo en extenso; le quita originalidad y capacidad de síntesis porque no fueron pensadas ni diseñadas para el resumen. Es mejor escribirlo de nuevo y resistir la tentación de usar partes del texto para ello.
– Incluir sólo las referencias indispensables (no más de cinco) que sean críticas para justificar ciertos aspectos metodológicos o del "estado del arte" del proyecto.
– Debe ser un buen reflejo del proyecto; debe destinar un espacio para (sin necesidad de mencionarlos como tales) la "Introducción/Justificación", "Antecedentes", "Objetivos", "Metodología", "Resultados esperados", "Referencias".

El resumen debe dejar claro de forma breve que: a) el investigador conoce el campo; b) su propuesta es original y valiosa; c) el proyecto puede lograr los objetivos que se plantea, usando las metodologías descritas, los recursos disponibles (o solicitados) y en el tiempo planeado.

Introducción

Debe fundamentalmente presentar al lector el tema del proyecto y justificar las razones del mismo. Debe informar sobre los conceptos e ideas básicas necesarios para que el lector pueda entender el proyecto y debe resaltar la importancia del tema en cuestión. En pocas palabras, debe convencer al lector de que el proyecto vale la pena hacerse.

Antecedentes

Sirve para mostrar que el estudiante o investigador conoce bien lo que se ha publicado sobre el tema específico de su investigación, que el trabajo no ha sido hecho antes —al menos idénticamente— y que tiene elementos de originalidad. Aquí se incluye la revisión exhaustiva y crítica de la literatura. El proceso de selec-

ción de las referencias que se incluirán en el proyecto es uno de los aspectos más críticos de esta parte. Es muy común encontrar citas muy generales, por ejemplo, de libros de texto, o que sólo tienen que ver marginalmente con el tema específico. Para juzgar la calidad de los antecedentes de un proyecto es importante considerar tanto las referencias bibliográficas que se incluyen, como las que *no* se incluyeron.

El capítulo de antecedentes puede dividirse (no necesariamente en forma de subcapítulos, sino conceptualmente) en:

a) **Antecedentes generales.** Se deben usar sólo para que el lector entienda cabalmente el tema, asumiendo que quienes lo lean (evaluadores) tienen cierto conocimiento, al menos general, del tema. Generalmente no citan, por ejemplo, libros de texto, debido a que se consideran muy básicos y generales.
b) **Antecedentes específicos.** Probablemente es la parte más importante y crucial, que debe incluir y discutir los artículos que han sido publicados previamente sobre el tema particular del proyecto. Esto permite demostrar que se conoce bien el tema y que se han leído —y asimilado— las publicaciones relevantes. Si el tema es muy nuevo y original, habrá muy pocas publicaciones específicas sobre el tema. Sin embargo, en estos casos se deben revisar cuidadosamente las referencias cuyos temas son cercanos. En la mayor parte de las veces, el tema tiene abundantes referencias específicas y, en consecuencia, resulta crítico revisarlas cuidadosamente para dejar claro lo que se ha hecho —y publicado— y aquello que es novedoso. La novedad puede residir en el enfoque de la propuesta.
c) **Antecedentes del laboratorio o investigador que no han sido publicados formalmente.** Es conveniente, para justificar que el estudiante, investigador o el laboratorio, tiene experiencia en el tema, citar tesis previamente desarrolladas cuyos datos no han sido publicados formalmente en alguna revista científica. Ésta es una de las fuentes de mayor valor para los estudiantes porque las tesis describen detalladamente los aspectos de la investigación, en particular los relacionados con la metodología. Por otra parte, incluyen recomendaciones específicas que son ideas "semilla" para el inicio de nuevos proyectos. Se deben revisar documentos tales como protocolos analíticos que el laboratorio ha establecido y experiencias de otros estudiantes y técnicos.
d) En el caso de proyectos destinados a solicitar financiación, se deben mencionar la **experiencia y los productos específicos** (publicaciones, alumnos graduados, etc.) del investigador o grupo que presenta la propuesta. Ello permitirá al evaluador juzgar mejor sobre las posibilidades de que el proyecto logre razonablemente bien sus objetivos. Usualmente los investigadores más experimentados tienen mayores posibilidades de que les aprueben sus proyectos, no por su naturaleza de "experimentado" sino porque normalmente escriben, como resultado de su experiencia, mejores proyectos. Sin embargo, para el investigador o estudiante novato, es aún más crítica la escritura de un proyecto de calidad para lograr el apoyo del fondo en cuestión. En consecuencia, deben ser particularmente cuidadosos en su elaboración.

De forma general, los antecedentes deben culminar justificando la novedad de la investigación y/o el enfoque usado para resolver el problema planteado.

Hipótesis

El método para hacer investigación científica en ciencias naturales, en particular la experimental, requiere usualmente la formulación de una hipótesis. Su correcta formulación es una de las limitaciones más fuertes

entre los estudiantes. Se debe recordar que una hipótesis es una suposición fundamentada y comprobable. Vale la pena también decir lo que una hipótesis *no* es (y que hay quien piensa que puede ser):

– El título del proyecto.
– El objetivo, general o específico, del proyecto.
– Un mini-resumen del proyecto.
– Una pregunta.

La hipótesis debe ser *una afirmación*, que puede ser comprobada o refutada. En consecuencia, una hipótesis no debe iniciarse con un verbo. La hipótesis debe poderse verificar o refutar. En los proyectos de investigación es muy común, encontrarse con hipótesis que, según están redactadas, no sería posible comprobarlas o refutarlas. Es importante cuidar meticulosamente la redacción y el lenguaje utilizado al escribir una hipótesis. La hipótesis debe ser, sobre todas las cosas, precisa: sin ambigüedades ni indefiniciones.

A continuación se presenta el ejemplo de una hipótesis ambigua y mal redactada, y sus consecuencias, y otras precisas y bien redactadas. Los ejemplos son de casos reales de la experiencia del autor.

Ejemplos de redacción de una hipótesis

Título del proyecto
"Efecto de la glucosa en las habilidades cognoscitivas"

Primera versión: "Dado que el funcionamiento del cerebro depende de la glucosa, es posible que ésta afecte a las capacidades cognoscitivas del individuo."

Comentarios: La primera frase no es una afirmación, sino un antecedente. "Es posible" está mal usado ya que no es una afirmación y puede ser contradictorio con "no posible". "Afectar" es muy impreciso: ¿qué significa concretamente que "afecte"?, ¿qué mejora o empeora? (¿con respecto a qué?). Por otra parte, ¿qué son específicamente las "capacidades cognoscitivas de un individuo"? Esta primera versión de la hipótesis no está bien redactada porque no es precisa y no es comprobable o refutable.

Segunda versión (después de haber indicado a los estudiantes los comentarios del párrafo anterior): "Las habilidades cognoscitivas de un individuo se verán afectadas después de haber ingerido una cierta cantidad razonable de glucosa."

Comentarios: Mejoró respecto a la primera versión en el sentido de que ahora ya es una afirmación; sin embargo, todavía persisten varias ambigüedades. Siguen siendo imprecisos los términos "habilidades cognoscitivas", "afectadas" y "cierta cantidad razonable de glucosa".

Tercera versión: "Cuando un individuo haya ingerido una bebida con glucosa, su memoria a corto plazo, su razonamiento verbal e identificación numérica, sufrirán un cambio significativo con respecto a aquellos evaluados antes de ingerir la bebida."

Comentarios: Esta versión, la final, cumple con las características de una buena redacción de la hipótesis. Es precisa ya que menciona claramente las variables medibles y es fácilmente verificable.

Para los proyectos de desarrollo tecnológico, no hay necesidad de incluir una hipótesis, ya que no se trata, en esos casos particulares, de probar o refutar una idea, sino de construir o mejorar un determinado proceso o producto. En tales casos, basta con escribir los objetivos del proyecto.

Objetivos

Esta parte, en un proyecto, debe convencer a los evaluadores o comités académicos de que al estudiante o investigador le queda claro, detalladamente *qué* va a hacer. Desde luego, el primero que debe estar convencido de ello es el estudiante o investigador.

Los objetivos generalmente se subdividen en *general* y *específicos*. El general (que se sugiere sea sólo uno) debe ser una frase corta que enmarque todo lo que se pretende lograr en el proyecto. Los específicos pueden detallarse al nivel de sugerir las actividades a desarrollar en el transcurso del tiempo estimado para el desarrollo del proyecto.

Es muy conveniente escribir los objetivos de manera secuencial, indicando cuál se debe lograr primero para alcanzar el siguiente. Los primeros objetivos específicos, que condicionan el resto del proyecto, son los metodológicos ya que si no están montadas y probadas las metodologías para medir los parámetros relevantes, no se podrá avanzar. En un proyecto, el montaje satisfactorio de las metodologías consume una proporción considerable del total del proyecto. Hay casos en los que las cuestiones metodológicas pueden llegar a ocupar cerca del 75 % del total.

La principal deficiencia en el planteamiento de los objetivos del proyecto es que sean demasiado ambiciosos, lo cual es bueno en ciencia, pero poco realista, lo que no es bueno en casi ningún campo. Otra deficiencia común es que los objetivos no sean congruentes, ya sea con el título, con la hipótesis o con el resto del documento

Metodología

Esta parte del proyecto tiene la función de convencer a los evaluadores o comité académico de que el estudiante o investigador sabe *cómo* va a desarrollar el proyecto. Una descripción detallada de la metodología le dará credibilidad al trabajo y a sus resultados. Se debe mencionar qué técnicas se van a usar para medir, con qué instrumentos, qué materiales, qué estrategia se va a aplicar para el diseño de experimentos, cuántas repeticiones se harán, cuáles serán los niveles de las variables a experimentar y cómo se pretende analizar y procesar los datos.

El éxito de un proyecto se basa en lo bien que se plantee la estrategia experimental. El tiempo empleado en planear al mayor detalle posible el desarrollo de una investigación está bien invertido: hace la supervisión del proyecto más sencilla y menos demandante. Sin embargo, siempre hay que estar abiertos a cambios y modificaciones en el transcurso de un proyecto. Un buen planteamiento metodológico debe convencer de que la forma como se piensa resolver el problema hará que el proyecto tenga posibilidades de éxito. Proyectos con una buena idea, con hipótesis y objetivos bien planteados, pero que no justifican en forma detallada cómo se van a desarrollar los experimentos y lograr los objetivos, son comunes y desde luego inaceptables.

El protocolo no debe contener todos y cada uno de los detalles específicos de la metodología. No es necesario describir, paso por paso, los procedimientos analíticos e instrumentales. Basta con mencionar la referen-

cia respectiva o el principio de medición, en el caso de que no exista una referencia. Incluir más demuestra inexperiencia, lo que posiblemente se interprete como un intento de incluir mayor número de páginas.

Una estrategia experimental debe incluir:

– La secuencia justificada sobre cómo serán realizados los experimentos, preferencialmente presentando en forma de un diagrama de bloques.
– Los argumentos para usar las técnicas idóneas, en los diferentes momentos del proyecto .
– El diseño experimental específico que se usará en cada paso de la experimentación.

El *diseño experimental* es el número y la forma de cómo se realizarán los experimentos: qué prueba estadística se usará y cómo se podrá discernir sobre la significación estadística entre valores. Asimismo, debe especificar las formas para demostrar la reproducibilidad de las mediciones (número mínimo de repeticiones, etc.) y deberá asegurarse de excluir variables que puedan confundir la interpretación de los resultados. Esto último es importante cuando no es posible garantizar que no haya otras variables, con excepción de la que se quiere medir su efecto, que estén influyendo en los resultados.

Es común encontrarse con proyectos que abundan en los detalles metodológicos, pero que no incluyen una auténtica estrategia experimental.

Cronograma de actividades

Esta parte debe dejar clara la secuencia temporal de las principales y más críticas etapas del proyecto. Si los objetivos específicos se han definido con detalle, se pueden traducir en actividades que se plasmen en un diagrama de barras o de Gantt. El detalle con el que deberá ser hecho este diagrama dependerá del tipo de proyecto y, desde luego, del tiempo disponible para hacerlo.

Los tiempos disponibles para el desarrollo de proyectos estudiantiles son usualmente los siguientes: licenciatura, un año; maestría, dos años; doctorado, tres a cuatro años. Dentro de estos periodos, la elaboración del proyecto puede durar un periodo de entre tres y doce meses. La unidad mínima de tiempo en el cronograma se puede establecer en meses, bimestres o trimestres. A nivel profesional, los tiempos para proyectos generalmente están definidos por las normas establecidas por los fondos de financiación y son entre uno y cinco años. La unidad de tiempo para los cronogramas de estos proyectos es cuatrimestral o semestral, generalmente asociada a los depósitos de los recursos llamados también "ministraciones" o "suministros".

Además del trabajo experimental, es importante considerar en el cronograma, los tiempos para el análisis y procesado de datos y para la integración del informe final, que puede ser un reporte interno, una tesis o un manuscrito para publicación en una revista. Es muy común subestimar el tiempo requerido para estas actividades. Para escribir su tesis, por lo general un estudiante de pregrado necesitará no menos de tres meses de tiempo completo y un estudiante de posgrado requerirá al menos seis meses.

La figura 7.3 presenta un ejemplo de un cronograma de actividades para un proyecto de investigación de una duración de un año. El cronograma tiene el objetivo de mostrar que el proyecto tiene alta probabilidad de llevarse a cabo y cumplir sus objetivos en los tiempos planteados por el estudiante o investigador. Periodos demasiado cortos o largos para una actividad son detectados con relativa facilidad por evaluadores o comités académicos con experiencia. El cronograma de actividades también sirve para darle seguimiento al proyecto y poder evaluar, objetiva y cuantitativamente, los avances del mismo.

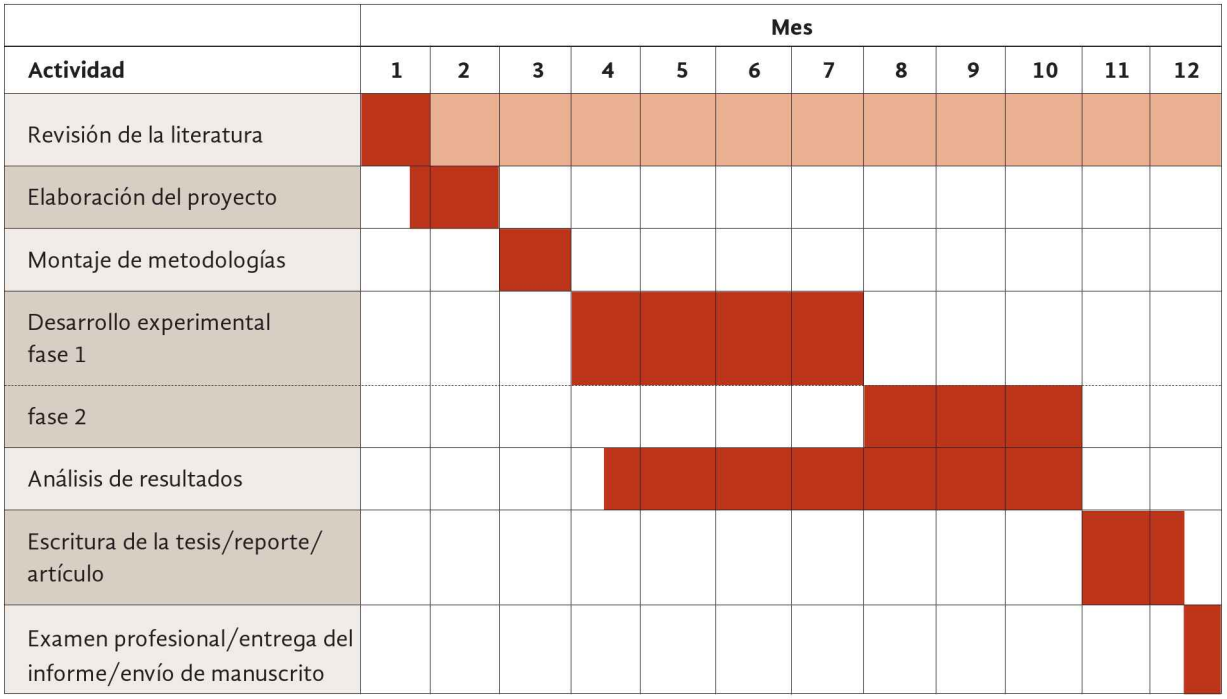


Figura 7.3 Ejemplo de un cronograma de actividades de un proyecto de investigación.

Costos estimados y financiación del proyecto

Esta parte sólo se incluye cuando el proyecto se enviará a un fondo de financiación para su eventual apoyo. Tiene el objetivo de justificar los recursos que se están solicitando para el desarrollo del proyecto.

Si bien en el caso de los protocolos estudiantiles, esta sección no se incluye, por no ser el propio estudiante el responsable del manejo de los recursos del proyecto (con la excepción, en algunos casos de los estudiantes de doctorado). Los participantes en el proyecto deben conocer los costos asociados a su proyecto, por ejemplo, revisando el proyecto que se sometió —y aprobó o está en revisión— al fondo de financiamiento.

El responsable del proyecto tiene que incluir argumentos convincentes de lo siguiente:

– **El equipo e instrumentos solicitados indispensables para el desarrollo del proyecto.** En los proyectos debe justificarse el uso del equipo en el contexto específico del proyecto. De otra manera, se sugerirá que el presupuesto se recorte si los equipos no se justifican para el proyecto.
– **Los precios de los equipos solicitados son los mejores del mercado.** Hay más de una alternativa instrumental para resolver un problema analítico y/o de desarrollo y no siempre la alternativa más cara (o más barata) es la mejor. Aquí se debe convencer de que el equipo o instrumento seleccionado es el más adecuado, en términos, por ejemplo, de su selectividad, precisión, rango de detección, etc. y que, además, es el que presenta el precio más conveniente. Se debe justificar la selección con base en la más alta relación beneficio/costo.
– **Los recursos solicitados para el gasto corriente del proyecto** (materiales, mantenimiento de equipo, refacciones, reparaciones, personal, becas, honorarios, viajes, viáticos, etc.) **deben estar plenamente justificados.** En el caso de los materiales se puede presentar un ejercicio de cálculo del consumo unitario, por

unidad de tiempo, número de análisis, etc., para justificar los volúmenes de consumo y recursos asociados a ellos. En el caso de las becas para estudiantes se debe indicar claramente qué parte del proyecto desarrollará cada estudiante y en el cronograma debe ser claro cuándo participará cada uno de ellos. Todos los otros rubros del gasto corriente deben estar plenamente justificados.

Se debe especificar en la propuesta si se cuenta con otra financiación para no duplicar, o hacer parecer que se duplica, el financiamiento. En varios casos es indispensable mostrar que se cuenta con los recursos mínimos generales (investigadores, laboratorio base, servicios generales) para el desarrollo del proyecto.

La elaboración del presupuesto también forma parte de la calidad del proyecto. Se califica como deficiente un proyecto que exagera los montos de los recursos solicitados; sin embargo, es también motivo de rechazo un presupuesto irrealmente bajo. Se deben solicitar todos los recursos que sean necesarios y a veces "los recursos necesarios" pueden representar una cantidad alta.

Resultados esperados

La investigación tiene el propósito de hacer descubrimientos, desarrollar productos o procesos sin precedentes, pero esto no significa que no se tenga idea de lo que se obtendrá, sobre todo si se sabe qué se está buscando. Se deberá establecer qué es lo que se espera obtener. Se puede tener cierto margen de especulación, normal y saludable en ciencia. Se debe hacer una lista de resultados esperados, en términos técnicos, si la hipótesis se verificó, etc., y de productividad, esto es, cuántos y que artículos científicos se podrán escribir, cuántos alumnos se graduarán y con qué temas, etc. Una alternativa conveniente es hacer la lista de resultados esperados con base en los objetivos específicos del proyecto.

De esta manera se cierra el circulo lógico del proyecto: indicar lo que se pretende lograr, después de haber justificado qué se hará, por qué se hará, cómo se hará, en cuánto tiempo y cuántos recursos se necesitarán para hacerlo.

Bibliografía

Esta parte tiene la finalidad de demostrar que se conoce a fondo lo que se ha publicado al respecto del tema o temas afines y que por lo tanto se puede discernir claramente el grado de originalidad del proyecto. También se proporciona una idea respecto a la experiencia que se tiene en el campo, sobre todo si se cuenta con publicaciones previas sobre el tema.

En esta sección se describirán aquellos aspectos de forma en el listado de las referencias bibliográficas, ya que en la sección de "Antecedentes" ya se ha tratado el tema del fondo que implica su adecuada selección.

Hay dos estilos principales para el citado de referencias:

– Numérico secuencial (sistema "Vancouver")
– Apellido y año (sistema "Harvard")

En el primer caso, las referencias se citan en el texto mediante números consecutivos, que se incluyen generalmente entre paréntesis o corchetes, o bien como superíndices. En la bibliografía se citan las referencias por

En nuestra vida diaria, la biotecnología es más común de lo que probablemente nos imaginamos[1]. Las bebidas alcohólicas y los productos lácteos fermentados (queso, yogurt) son productos biotecnológicos bien conocidos[2] . Por biotecnología también se producen antibióticos[3] (como la penicilina), una amplia variedad de medios para el diagnóstico clínico, vacunas y hormonas como la insulina[4]. Usando técnicas biotecnológicas se tratan las aguas residuales[5], tanto municipales como industriales.

A partir del descubrimiento de la constitución del material genético[6] y su manipulación[7], la biotecnología que hace uso de microorganismos, plantas o animales manipulados genéticamente se ha convertido en una herramienta muy poderosa, tanto para un entendimiento cada vez mayor y más profundo de la vida en el planeta, como para resolver problemas que tienen que ver con necesidades básicas de la humanidad, como la alimentación, la salud y el cuidado del medio ambiente. En particular, el reciente conocimiento del genoma humano[8,9], está generando, además de un potencial casi ilimitado de posibilidades en la prevención y tratamiento de enfermedades, implicaciones de carácter ético y legal que afectarán al ciudadano común[10]. La sociedad en general tiene derecho a estar bien informada acerca de esta revolucionaria y a veces controvertida tecnología.

Referencias

1. López-Munguía, A. (2000), *La biotecnología*, Consejo Nacional para la Cultura y las Artes, México, D.F. (ISBN: 970-18-4205-7), pp. 58-59.
2. Galindo E. (2007), "Microbios, fermentaciones y biotecnología", *La Unión de Morelos*, 9 de Julio de 2007, p. 15. (disponible en: www.acmor.org.mx/descargas/9jul.pdf).
3. Demain, A.L (2000), "Small bugs, big business: The economic power of the microbe", *Biotechnology Advances*, 18: 499-514.
4. Rigss, A.D. (1981), "Bacterial production of human insulin", *Diabetes Care*, 4(1): 64-68.
5. Noyola, A. (1999), "Desarrollo de tecnologías mexicanas en tratamiento de aguas residuales: una experiencia", *Interciencia*, 24(3): 169-172.
6. Watson. J.F; Crick, F. (1953), "Molecular structure of nucleic acids: structure for deoxy-ribose nucleic acids", *Nature*, 171: 737-738.
7. Soberón-Mainero, F.X. (1996), *La ingeniería genética y la nueva biotecnología*, Fondo de Cultura Económica, Colección "La ciencia desde México", vol. 145, México, 180 pp.
8. Baltimore, D. (2001), "Our genome unveiled", *Nature*, 409: 814-816.
9. Jasny, B.R; Kennedy, D. (2001), "The human genome", *Science*, 291: 1153.
10. Balbás, P. (2003), *Genética. De la clonación molecular al desarrollo cultural*, Plaza y Valdés Editores, México, D.F., 113 pp.

Recuadro 7.1 Ejemplo de citado de referencias usando el sistema numérico-secuencial (Vancouver).

orden número y secuencial (recuadro 7.1). En el segundo caso, las referencias se citan en el texto, entre paréntesis, mencionando el apellido del autor o autores, si son dos, o bien si son más de dos incluyendo el apellido del primer autor y la leyenda "*et al.*" o "y col." (que quiere decir "y colaboradores"). Después del apellido —y dentro del paréntesis— se debe incluir el año de la publicación. En la bibliografía se listan las referencias en orden alfabético, considerando las primeras letras del apellido del primer autor (recuadro 7.2, p. 68).

La selección de la forma para citar referencias depende de la preferencia personal, aunque en algunos casos es necesario seguir las que establecen las instrucciones de un determinado fondo o comité académico. La ventaja del sistema Harvard (apellido-año) es que se pueden incluir en el texto tantas referencias como se desee, sin que sea necesario cambiar el orden y números de citado, como sería el caso en el sistema Vancouver (numérico-secuencial). Sin embargo, cuando el número de referencias es limitado, el sistema Vancouver es más simple y conveniente en vista de que es más intuitivo y facil de seguir por los lectores.

Las referencias, además del título completo, deben incluir los datos del nombre de la revista (o su abreviatura), el volumen, número y año de publicación, nombres de los autores (en un solo y consistente formato) y las páginas iniciales y finales de los artículos. En el caso de capítulos de libros, libros, manuales, etc., se deberá incluir también la editorial, editor, ISBN, ciudad de publicación, etc. Para el caso de referencias de In-

En nuestra vida diaria, la biotecnología es más común de lo que probablemente nos imaginamos (López-Munguía, 2000). Las bebidas alcohólicas y los productos lácteos fermentados (queso, yogurt) son productos biotecnológicos bien conocidos (Galindo, 2007). Por biotecnología también se producen antibióticos (Demain, 2000), como la penicilina, una amplia variedad de medios para el diagnóstico clínico, vacunas y hormonas como la insulina (Rigss, 1981). Usando técnicas biotecnológicas se tratan las aguas residuales (Noyola, 1999), tanto municipales como industriales.

A partir del descubrimiento de la constitución del material genético (Watson y Crick, 1953) y su manipulación (Soberón-Mainero, 1996), la biotecnología que hace uso de microorganismos, plantas o animales manipulados genéticamente se ha convertido en una herramienta muy poderosa, tanto para un entendimiento cada vez mayor y más profundo de la vida en el planeta, como para resolver problemas que tienen que ver con necesidades básicas de la humanidad, como la alimentación, la salud y el cuidado del medio ambiente. En particular, el reciente conocimiento del genoma humano (Baltimore, 2001; Jasny y Kennedy, 2001), está generando, además de un potencial casi ilimitado de posibilidades en la prevención y tratamiento de enfermedades, implicaciones de carácter ético y legal que afectarán al ciudadano común (Balbás, 2003). La sociedad en general tiene derecho a estar bien informada acerca de esta revolucionaria y a veces controvertida tecnología.

Referencias

- Balbás, P. (2003), *Genética. De la clonación molecular al desarrollo cultural*, Plaza y Valdés Editores, México, 113 pp.
- Baltimore, D. (2001), "Our genome unveiled", *Nature*, 409: 814-816.
- Demain, A.L (2000), "Small bugs, big business: The economic power of the microte", *Biotechnology Advances*, 18: 499-514.
- Galindo E. (2007), "Microbios, fermentaciones y biotecnología", *La Unión de Morelos*, 9 de julio de 2007, p. 15. (disponible en: www.acmor.org.mx/descargas/9jul.pdf)
- Jasny, B.R; Kennedy, D. (2001), "The human genome", *Science*, 291: 1153.
- López- Munguía, A. (2000), *La biotecnología*, Consejo Nacional para la Cultura y las Artes, México, pp. 58-59.
- Noyola, A. (1999), "Desarrollo de tecnologías mexicanas en tratamiento de aguas residuales: una experiencia", *Interciencia*, 24(3): 169-172.
- Rigss, A.D. (1981), "Bacterial production of human insulin", *Diabetes Care*, 4(1): 64-68.
- Soberón-Mainero, F.X. (1996), *La ingeniería genética y la nueva biotecnología*, Fondo de Cultura Económica, Colección "La ciencia desde México", vol. 145, México, 180 pp.
- Watson. J.F; Crick, F. (1953), "Molecular structure of nucleic acids:structure for desoí-ribose nucleic acids", *Nature*, 171: 737-738.

Recuadro 7.2 Ejemplo de citado de referencias usando el sistema apellido-año (Harvard).

ternet, éstas deben incluir, además de lo que es común para las demas fuentes, el URL y la fecha de consulta. En el caso de abreviaturas, deben emplearse las aceptadas internacionalmente.

El citado y listado de referencias es donde más errores se cometen, desde documentos elaborados por estudiantes, hasta manuscritos sometidos a publicación por investigadores establecidos. Los errores que más comúnmente se cometen en el citado y listado de las referencias bibliográficas son:

– Hay referencias que se citan en el texto, pero que no se encuentran en el listado de la bibliografía.
– Hay referencias en el listado, que no se encuentran citadas en el texto.
– La forma de citar en el texto no es consistente, por ejemplo: a veces se menciona sólo el apellido del autor y año de la publicacion y a veces se incluye también la inicial del nombre del autor.
– Una cita, como está escrita en el texto, no corresponde sin ambiguedad a una referencia en el listado. Por ejemplo, en el texto se cita como Fulano (1999), pero en el listado se encuentra que la referencia de Fulano (1999) debería ser realmente Fulano *et al.* (1999). Esta última, en el sistema Harvard, es diferente a Fulano (1999).
– Se mezclan estilos para citar referencias. Por ejemplo: a veces se usa la forma numérico-secuencial y a veces la de autor-año.

– Las referencias están incompletas. Deben incluirse los títulos de los trabajos, ya que es muy ilustrativo para quienes evaluarán la propuesta. Es contraproducente tratar de ahorrar espacio obviando los títulos de tales publicaciones.
– El orden alfabético del listado no es correcto.
– Hay inconsistencias en cómo se escriben las referencias. Por ejemplo, a veces se usa el nombre completo de la revista y a veces se usa su abreviatura; a veces los nombres —o abreviaturas— de las revistas se escriben en cursivas y a veces no; a veces se escribe primero el título del artículo y a veces se escribe primero el nombre de la revista, etc. Debe decidirse *un solo estilo* para listar las referencias y luego ajustarse fiel y consistentemente a él.

No deben citarse referencias que no se hayan leído. Un evaluador o comité académico experimentado detectará facilmente si lo que se consigna en el proyecto corresponde o no a lo que se publicó en la referencia original. Por otra parte, no se deben citar referencias de "segunda mano", es decir, sólo basándose en lo que terceros autores mencionan sobre su contenido.

En el Apéndice (p. 165) de este libro se presenta un ejercicio que puede ayudar a identificar los errores más comunes que se cometen en el citado y listado de referencias y a tratar de evitarlos.

Si bien un correcto citado y listado de referencias bibliográficas puede resultar una tarea tediosa y aparentemente sin importancia, un evaluador con experiencia concluirá que si quien lo escribió no tuvo el cuidado suficiente en estos detalles, tampoco lo tendrá en aspectos más cruciales del proyecto.

Comentarios finales

Un proyecto de investigación, además de convencer a un evaluador o comité académico respecto a las virtudes y viabilidad del mismo, debe ser fácil de leer y debe tener continuidad. Es demasiado común el hecho de que los proyectos se escriben sin cuidar los detalles de redacción, ortografía, edición, formateo y facilidad de la lectura. Es inaceptable que en un proyecto de investigación haya errores de ortografía o de tipografía ("dedo"). Sólo demuestra falta de cuidado en la preparación y habla muy mal de la meticulosidad y seriedad que se podrá tener en el desarrollo del proyecto. No hay justificación para errores de este tipo.

Lecturas adicionales sugeridas

Davis, Martha (1997), *Scientific papers and presentations*, Academic Press, Londres, San Diego, 295 pp. El capítulo 5, "The proposal" (pp. 44-56), cubre el tema de la elaboración del protocolo o proyecto de investigación.

<www-library.ubc.ca/scieng/coden.html>. Página de la Universidad de British Columbia, Canadá, en donde se dan recomendaciones muy precisas para citar correctamente fuentes de Internet.

8. LA ACCIÓN (Y SUS EVIDENCIAS)

Desarrollo y documentación de la investigación

A los culpables no se les juzga por lo que hicieron, sino por lo que se les pudo probar

Jurisprudencia Universal

La más pálida tinta es mejor que la más brillante memoria

Proverbio chino

Una vez que se ha elaborado el plan, lo que procede es ejecutarlo. Los estudiantes e investigadores desean entrar lo más pronto posible a la acción; sin embargo, una buena planificación es fundamental para el desarrollo de cualquier proyecto de investigación y todo lo que se invierta en ello se cosechará con creces. Si se hace una buena planificación, el desarrollo de los experimentos será una cuestión sobre todo de cuidado, paciencia y perseverancia.

Ajustar el plan a la realidad experimental

Es común que hasta la etapa de elaboración del plan no se haya hecho trabajo de laboratorio. En este caso lo primero que se tendrá que hacer es reunir los materiales e instrumentos necesarios y hacer pruebas preliminares de funcionamiento de equipo, calibración de instrumentos, etc. En ocasiones es necesario adquirir o reparar algún equipo y ponerlo en funcionamiento. La primera etapa en un proyecto experimental es el montaje o puesta a punto de las técnicas analíticas o instrumentales con las que se medirán las variables dependientes del sistema experimental. El experimentador deberá asegurarse de que las técnicas usadas en el laboratorio o reportadas por otros son fiables y reproducibles, cuando él o ella las lleva a cabo. El experimentador deberá elaborar sus propios estándares y curvas patrón.

Es útil hacer experimentos preliminares, los cuales tienen como principal objetivo que el estudiante se familiarice con el equipo, los instrumentos y las técnicas analíticas que usará. No se debe esperar mucho de los resultados de estos experimentos (por considerarse sólo con fines de entrenamiento). Estos experimentos deben ser supervisados por el asesor o supervisor, por sus asistentes técnicos o bien por estudiantes avanzados que ya dominen el manejo del equipo y las técnicas. Es frecuente que el estudiante o investigador tenga que montar nuevas técnicas y procedimientos experimentales, sin antecedente en el laboratorio.

Como resultado del montaje o puesta a punto de las técnicas analíticas y del desarrollo de los experimentos preliminares, es frecuente que se tengan que hacer ajustes al plan. En algunos casos el plan se escribe (o se termina de escribir) hasta que el estudiante se haya familiarizado con el esquema experimental. Esto tiene la ventaja de que no se incluirán en el protocolo esquemas que no sean viables, aunque puede retrasar innecesariamente la elaboración del proyecto, que de todos modos será necesario ajustar.

Al final de esta etapa "preliminar" de la investigación se puede encontrar que los intervalos de detección de las técnicas no son suficientemente sensibles para probar la hipótesis del proyecto, o bien que el equipo

principal con el que se había planeado desarrollar la mayor parte del proyecto esté descompuesto, o bien que la disponibilidad o el costo de un reactivo o material crítico es diferente a lo planeado, etc. Lo que se pretende es ajustar el protocolo experimental a la realidad en ese momento en el sitio donde se hará la investigación. Es entonces cuando los estudiantes se enfrentan a retos técnicos importantes que, sin ser una parte explícita del programa de investigación, contribuyen sensiblemente a su formación. Aquí también los estudiantes brillantes demuestran ingenio para resolver problemas técnicos. La flexibilidad y creatividad del experimentador resultan fundamentales.

El montaje de metodologías y técnicas analíticas o instrumentales puede consumir buena parte del tiempo disponible para la investigación. No es raro que llegue a ser hasta un 50-75 %.

Entrar en acción

Cuando finalmente llegue el momento de hacer los experimentos planificados, hay que llevarlos a cabo de la forma más cuidadosa posible, hacer las repeticiones que sean necesarias, de acuerdo a la estrategia experimental y documentar todo el proceso de la forma más detallada y exhaustiva posible.

Documentar todo el proceso

De nada sirve haber descubierto algo si no se documenta todo el proceso y se presentan las pruebas respectivas. En la investigación experimental, la forma más común para el registro y la documentación de las pruebas y sus resultados, es mediante el uso de una bitácora. Aunque se tiende cada vez más a usar exclusivamente archivos electrónicos para registrar los datos; esto debe considerarse adicional a la bitácora de papel.

Una bitácora es una libreta o cuaderno con las siguientes características:

– paginada
– con hojas encuadernadas, que no se puedan retirar facilmente
– robusta para soportar el uso rudo del laboratorio o lugar de experimentación
– que permita y facilite la escritura y corrección de datos, inclusión de tablas, figuras y gráficas
– claramente etiquetada (nombre del proyecto y de los estudiantes participantes)
– tamaño que la haga fácilmente localizable.

El tamaño de las hojas de la bitácora es usualmente el denominado "oficio", conteniendo entre 100 y hasta 500 páginas y algunas de ellas tienen bordes protegidos con refuerzos metálicos. En ciertos laboratorios, sobre todo de investigación y desarrollo de empresas, existe un tipo especial de bitácora, la cual tiene papel carbón integrado en cada página, de tal manera que, al final de cada jornada de trabajo, se pueda entregar una copia del original al jefe o supervisor. Asimismo, algunas bitácoras incluyen una pequeña cerradura de broche, que impide que personas no relacionadas puedan tener acceso a ella. En el comercio existen cuadernos especialmente elaborados para usarse como bitácoras.

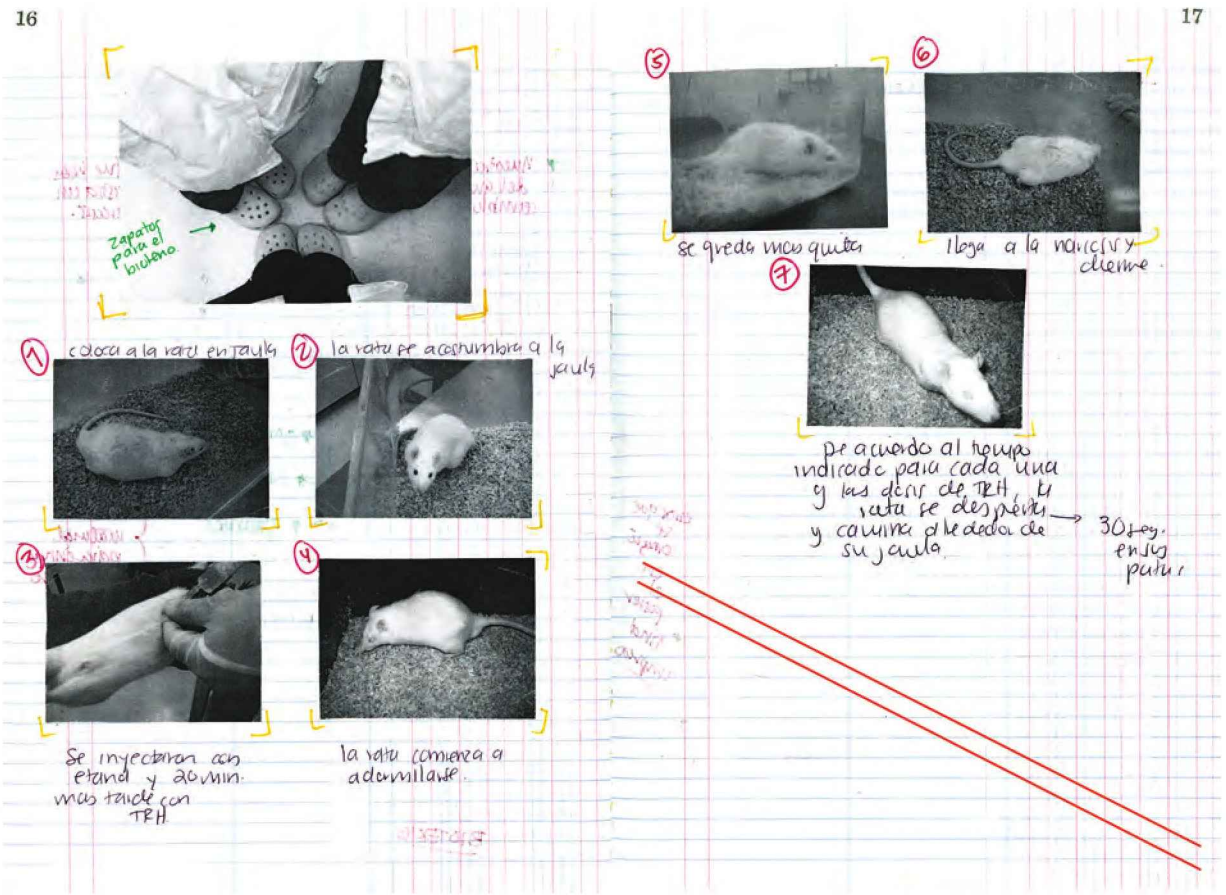
La bitácora debe considerase un cuaderno de trabajo. Allí se escribirán ideas, planes específicos de acción, desde luego los resultados primarios (no procesados), su análisis y procesamiento, notas sobre detalles de los procedimientos experimentales y hasta comentarios personales sobre sucesos del trabajo en el laborato-

rio o el campo de experimentación. Las anotaciones deberán hacerse de tal manera que no se borren o alteren fácilmente. Las correcciones se deberán hacer también de una forma indeleble (esto es, con tinta, nunca con lápiz) y señalando claramente la razón y la fecha de la corrección. Se recomienda firmar (indicando claramente el nombre del participante, cuando hay más de uno) la bitácora después de consignar las anotaciones de una jornada laboral.

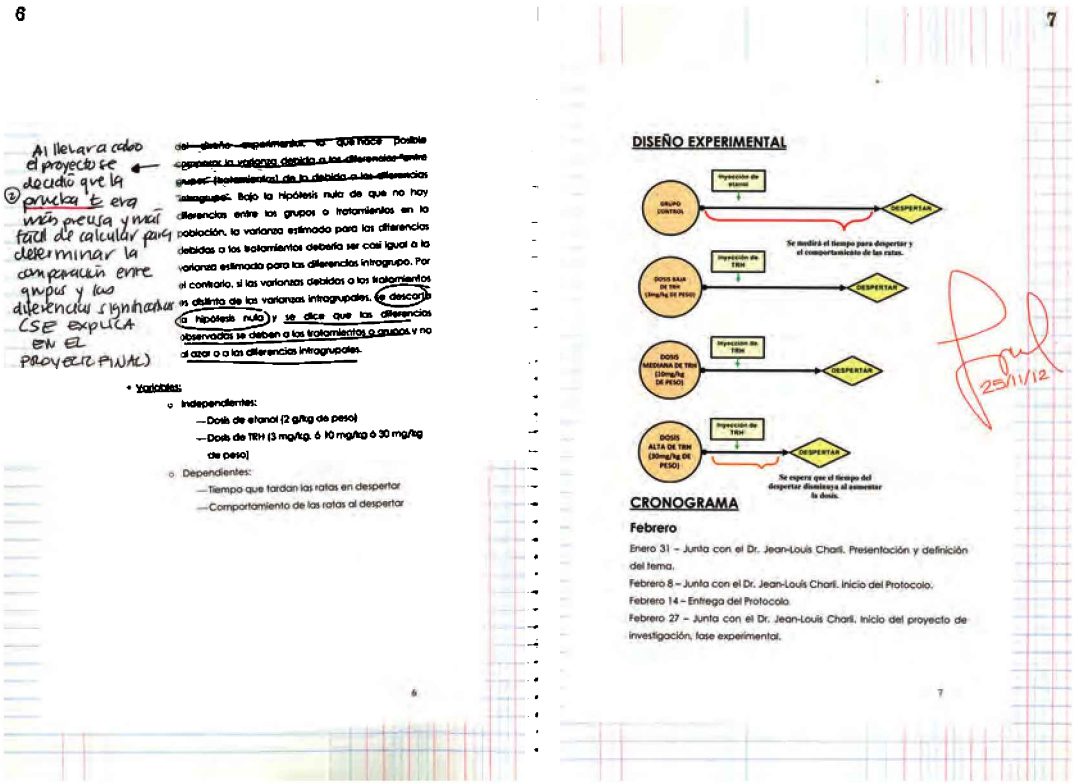
En la bitácora se deberán anotar o incluir:

– detalles de procedimientos y técnicas, montajes, condiciones, etcétera
– notas y observaciones, fechadas
– evidencias documentales y físicas (fotos de los equipos y de pruebas de campo y laboratorio, imágenes de resultados y especímenes, impresiones de resultados analíticos, etcétera)
- resultados buenos y malos; preliminares y finales
- dibujos, esquemas.

Se deberá poner especial cuidado en registrar detalladamente condiciones o resultados "inesperados", "fuera de lo normal", "contradictorios", "disparatados", "locos", ya que podrían ser el inicio de un descubrimiento interesante o importante.



Ejemplo de una bitácora. Se deben cancelar espacios en blanco.



6

Al llevar a cabo el proyecto se decidió que la prueba t era más precisa y más fácil de calcular para determinar la comparación entre grupos y las diferencias significativas (SE explica en el proyecto final)

del diseño experimental, es que hace posible comparar la varianza debida a las diferencias entre grupos (tratamientos) de la debida a las diferencias intragrupos. Bajo la hipótesis nula de que no hay diferencias entre los grupos o tratamientos en la población, la varianza estimada para las diferencias debidas a los tratamientos debería ser casi igual a la varianza estimada para las diferencias intragrupo. Por el contrario, si las varianzas debidas a los tratamientos es distinta de las varianzas intragrupales, se descarta la hipótesis nula y se dice que las diferencias observadas se deben a los tratamientos o grupos y no al azar o a las diferencias intragrupales.

- Variables:
  - Independientes:
    - Dosis de etanol (2 g/kg de peso)
    - Dosis de TRH (3 mg/kg, 6 10 mg/kg ó 30 mg/kg de peso)
  - Dependientes:
    - Tiempo que tardan las ratas en despertar
    - Comportamiento de las ratas al despertar

6

7

DISEÑO EXPERIMENTAL

25/11/12

CRONOGRAMA

Febrero

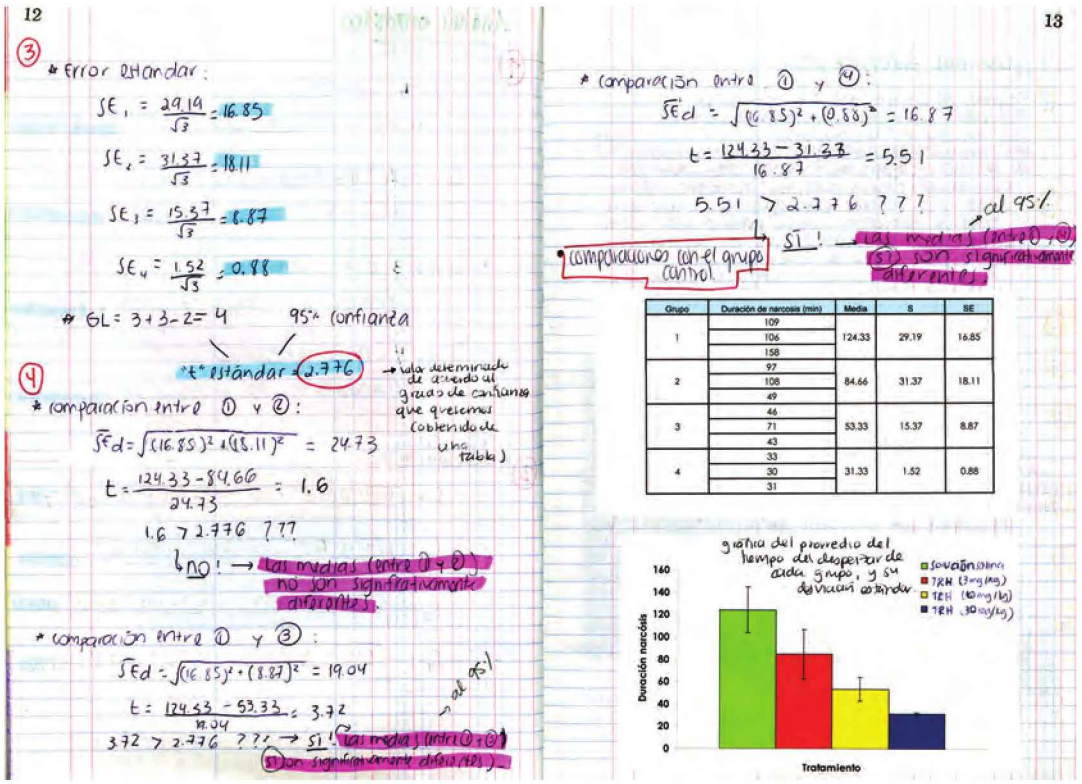
Enero 31 – Junta con el Dr. Jean-Louis Charli. Presentación y definición del tema.

Febrero 8 – Junta con el Dr. Jean-Louis Charli. Inicio del Protocolo.

Febrero 14 – Entrega del Protocolo.

Febrero 27 – Junta con el Dr. Jean-Louis Charli. Inicio del proyecto de investigación, fase experimental.

7



12

③

* Error estándar:

$SE_1 = \frac{29.19}{\sqrt{3}} = 16.85$

$SE_2 = \frac{31.37}{\sqrt{3}} = 18.11$

$SE_3 = \frac{15.37}{\sqrt{3}} = 8.87$

$SE_4 = \frac{1.52}{\sqrt{3}} = 0.88$

* $GL = 3 + 3 - 2 = 4$ — 95% confianza

"t" estándar = 2.776 → Valor determinado de acuerdo al grado de confianza que queremos (obtenido de una tabla)

④

* comparación entre ① y ②:

$\overline{SE}d = \sqrt{(16.85)^2 + (18.11)^2} = 24.73$

$t = \frac{124.33 - 84.66}{24.73} = 1.6$

1.6 ? 2.776 ???

No! → las medias (entre ① y ②) no son significativamente diferentes

* comparación entre ① y ③:

$\overline{SE}d = \sqrt{(16.85)^2 + (8.87)^2} = 19.04$

$t = \frac{124.33 - 53.33}{19.04} = 3.72$

3.72 > 2.776 ??? → SI! las medias (entre ① y ③) SI son significativamente diferentes

13

* comparación entre ① y ④:

$\overline{SE}d = \sqrt{(16.85)^2 + (0.88)^2} = 16.87$

$t = \frac{124.33 - 31.37}{16.87} = 5.51$

5.51 > 2.776 ??? al 95%

SI! → las medias (entre ① y ④) SI son significativamente diferentes

comparaciones con el grupo control

Grupo	Duración de narcosis (min)	Media	S	SE
1	109	124.33	29.19	16.85
	106			
	158			
2	97	84.66	31.37	18.11
	108			
	49			
3	46	53.33	15.37	8.87
	71			
	43			
4	33	31.33	1.52	0.88
	30			
	31			

gráfica del promedio del tiempo del despertar de cada grupo, y su desviación estándar

Es importante incluir todos los datos y detalles de cálculo.

Hay que tener en cuenta que la bitácora es la fuente original de datos y de resultados de cualquier desarrollo experimental y puede ser usada, por ejemplo, con fines legales como prueba de la prioridad de un descubrimiento. La elaboración de una bitácora clara y bien documentada es fundamental para el buen desarrollo y culminación de una investigación.

Algunas recomendaciones para elaborar y mantener la bitácora son:

– Incluir siempre la fecha.
– No deben dejarse hojas en blanco (cancelar, por ejemplo con una línea, los espacios vacios).
– Vaciar la información lo más pronto posible después de haber hecho el experimento.
– Una vez vaciada la información, sacar una fotocopia y guardarla, por separado, en lugar seguro.
– Si el proyecto se desarrolla en equipo, se debe indicar claramente a quién corresponde cada una de las anotaciones.
– Al agregar fotos u otras evidencias, pegarlas con adhesivo para que no se puedan desprender facilmente.
– Mostrar frecuentemente la bitácora al supervisor o asesor.

Es importante resaltar que la bitácora no debe ser una libreta en donde se anotan sólo los detalles circunstanciales y las "aventuras" en el desarrollo de la investigación. Si bien es posible (y hasta sano) anotar detalles de esa naturaleza, el objetivo principal es documentar lo mejor posible el planteamiento y los resultados de la experimentación.

La bitácora es propiedad de la institución y, en particular, del grupo de investigación en el que se esté haciendo la investigación y por ello, al culminar el proyecto o la estancia de investigación, deberá ser entregada al asesor o supervisor.

Lecturas adicionales sugeridas

Barrass, Robert, *Scientists Must Write. A Guide to Better Writing for Scientists*, Engineers and Students, Londres y Nueva York, Chapman and Hall, 1978, 176 pp. En las páginas 8 y 9 se incluyen recomendaciones para hacer anotaciones sobre el desarrollo experimental.

9. LA REFLEXIÓN

Análisis de datos experimentales

¡Tantos datos y tan poca información!

Anónimo

Una vez que se ha concluido una serie de experimentos, y se han obtenido datos al respecto, es hora de tratar de transformar tales datos en *información* y eventualmente en *conocimiento*. Los datos, por sí solos, no lo son. Se deben analizar, interpretar e identificar su significado. En otras palabras, más coloquiales, *exprimirlos*, para sacarles toda la sustancia o "jugo" que pudieran contener. Ver cómo los datos se transforman en conocimiento, y por lo tanto constatar que dicen algo significativo sobre la pregunta que se le hizo a la naturaleza o sistema, mediante un experimento, es una de las actividades más gratificantes de la investigación científica.

Algunas recomendaciones básicas sobre, primero, cómo presentar y organizar los datos, y luego, cómo analizarlos desde el punto de vista estadístico, se presentan a continuación.

Error experimental

En ciencia, el término *error* no es sinónimo de equivocación, sino que se usa para representar la incertidumbre, esto es, el grado de seguridad sobre el valor de un determinado dato. Hay varias razones por las que los datos tienen incertidumbre, a saber:

– por la precisión de las mediciones; ya sea debidas al ojo humano o a las limitaciones de los instrumentos, o ambas. Toda medición implica una aproximación o redondeo con una escala predeterminada;
– por la imposibilidad práctica de repetir idénticamente un experimento;
– porque se trata de una muestra y, por lo tanto, no se puede garantizar que represente fielmente al universo que se quiere medir;
– en el caso de poblaciones, no es posible hallar dos individuos idénticos.

Un concepto fundamental que debe tener claro todo aquel que lleva a cabo un proyecto experimental de investigación es el del ERROR EXPERIMENTAL. En la figura 9.1 (p. 82) se ilustra lo que se denomina un "diagrama de puntos", el cual sirve para ilustrar el concepto de error experimental. Se consignan los resultados numéricos (datos) de un mismo experimento (réplica). La figura indica que, en ese experimento en particular, los datos obtenidos se encuentran en un rango (entre 12 y 15 unidades) y que los valores se agrupan alrededor de un determinado valor (en este caso, 14). Esto nos da una idea de dos aspectos fundamentales: a) el valor

que podría ser representativo de ese conjunto de datos (el promedio) y b) la dispersión de los datos, lo que a su vez indica el grado de confianza (o incertidumbre) de los mismos. Lo ideal, desde luego, es lograr la menor dispersión en los datos, lo que le da una alta certidumbre al promedio de ellos.

En la figura 9.2 se ilustran los mismos datos de la figura 9.1, pero ahora se incluyen dos parámetros que caracterizan numéricamente tanto el valor representativo (la media o promedio), como la dispersión, caracterizada por la desviación estándar (ecuación 1 del recuadro 9.1, p. 84) de los datos.

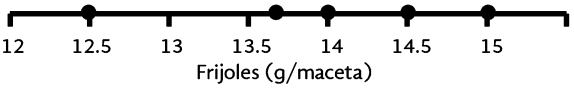


Figura 9.1 Diagrama de puntos, de una muestra de cinco observaciones.

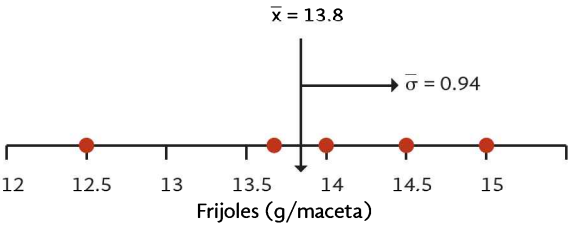


Figura 9.2 Diagrama de puntos ilustrando la media y la desviación estándar de los datos.

Un buen diseño experimental debió haber incluido el llevar a cabo suficientes réplicas del experimento, para estimar el error experimental. El error experimental se define como la variación que un resultado tiene en una variable dependiente, bajo iguales condiciones experimentales. Se expresa como una variación porcentual respecto a la media del valor de las determinaciones.

El nivel de error experimental depende del tipo de sistema en el que se esté trabajando y, en general, cuanto más complejos son los sistemas, mayor será el error experimental. Los sistemas físicos, tienen típicamente errores experimentales más bajos, que, por ejemplo, los sistemas biológicos. No hay un valor universal de lo que se podría llamar el "error experimental aceptable". Depende considerablemente del sistema. Un buen diseño experimental debe minimizar el error experimental.

Si bien el error experimental es inherente a un sistema en particular, es posible minimizarlo si se siguen las siguientes recomendaciones:

– Seguir siempre, con rigor, los procedimientos analíticos involucrados.
– Asegurarse de que las condiciones bajo las que se repite un experimento sean, hasta donde sea posible, idénticas.
– Usar siempre, para un conjunto de experimentos, los mismos instrumentos de análisis, con las mismas calibraciones y usando los mismos reactivos (incluso, del mismo lote).
– Que sea una misma persona la que lleve a cabo las mediciones.
– Usar siempre los mismos recipientes, reactores o equipos.
– Asegurarse que la variable independiente (esto es, la que el experimentador fija) siempre lo sea y que se pueda controlar con precisión.
– Incrementar el número de mediciones sobre la misma variable dependiente.
– Usar técnicas estadísticas como la "aleatorización" y la "formación de bloques" en las pruebas (este tema puede ser consultado con detalle en Box *et al.*, 1988).

Análisis de datos

Una vez que los datos han sido obtenidos, entonces viene la parte más creativa del trabajo de la investigación experimental: analizar y discutir los datos. Básicamente consiste en tratar de contestar las siguientes interrogantes:

– ¿Qué dicen los datos?
– ¿Qué significan?
– ¿Qué novedad aportan al conocimiento?
– ¿Qué diferencias hay con datos anteriores?
– ¿Prueban o refutan la hipótesis?

Para contestar estas preguntas primero es necesario saber si, cuando se hace un experimento en donde se varía una o más variables independientes, la respuesta de las variables dependientes es significativa. Para ello se tiene que hacer un análisis estadístico básico.

Análisis estadístico básico

Supóngase que se está investigando el posible efecto que tiene la aplicación de un determinado fertilizante sobre la cantidad de frijol producida bajo determinadas condiciones ambientales, controladas de la mejor forma posible. El diseño experimental consistió en aplicar tres tipos de fertilizante en una prueba que se desarrolló en cinco macetas (a esto se le llama repeticiones), además de un experimento testigo al que no se aplicó fertilizante. Después de llevar a cabo el experimento y medir la cantidad de frijol que se produjo en cada una de las macetas, se obtuvieron los resultados que se indican en la tabla 9.1.

Un primer procesamiento de los datos de la tabla 9.1 es calcular los promedios de las cinco repeticiones de cada tratamiento. Los promedios se indican, en dos formas diferentes (sólo con fines de ejemplificación, ya que ello no es recomendable en un informe final) en la tabla 9.2 y en la figura 9.3 (p. 84). Los datos indican que el fertilizante B produjo la mayor cantidad de frijol y que ésta fue mayor que en el experimento testigo en donde no se aplicó fertilizante. El fertilizante A mostró una menor efectividad, aunque fue mayor al testigo. Los tratamientos B y C tuvieron una producción de frijoles muy similar entre ellos y mayor al testigo. En conclusión,

Resultado: gramos de frijol por maceta

	Maceta				
Fertilizante	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**
A	12.5	14.0	13.7	15.0	14.5
B	13.8	16.1	17.3	15.8	14.9
C	14.3	16.2	14.9	15.4	16.0
Sin fertilizante (testigo)	10.2	11.1	9.8	11.3	10.6

Tabla 9.1 Resultados de un experimento en donde se evaluaron tres fertilizantes sobre la producción de frijol.

Fertilizante	**Promedio* de gramos de frijol por maceta**
A	13.9
B	15.6
C	15.4
Sin fertilizante (testigo)	10.6

$^{*}\frac{g_1 + g_2 + g_3 + g_4 + g_5}{5}$

Tabla 9.2 Promedios de los resultados consignados en la tabla 9.1.

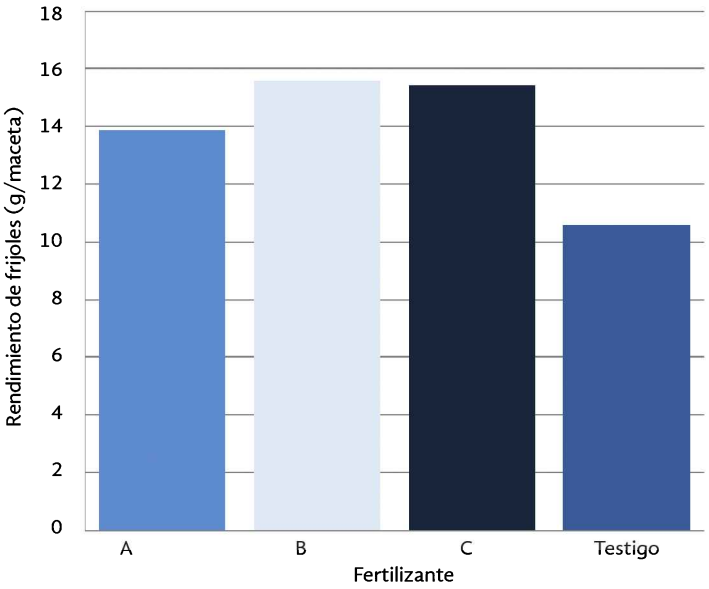


Figura 9.3 Resultados (en forma de gráfica) de los resultados del experimento consignados en la tabla 9.2.

el mejor fertilizante fue el B. Sin embargo, este análisis no consideró la variación experimental entre las repeticiones. Con el fin de considerar tales variaciones, es necesario calcular la desviación estándar de cada conjunto de datos experimentales. Para ello se usa la definición de desviación estándar (ecuación 1) que se incluye en el recuadro 9.1.

Recuadro 9.1 Fórmulas de los parámetros estadísticos para analizar datos experimentales.

1) Desviación estándar $= s = \sqrt{\dfrac{\Sigma(x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$

2) Error estándar $= \overline{SE} = \dfrac{s}{\sqrt{n}}$

3) Error estándar de la diferencia $= \overline{SE}_d = \sqrt{(SE_A)^2 + (SE_B)^2}$

4) Valor de la prueba estadística t $= t = \dfrac{\bar{x}_A - \bar{x}_B}{\overline{SE}_d}$

donde:

$x_i =$ valor individual de cada dato de la muestra

$\bar{x} =$ media $= \dfrac{\Sigma x_i}{n}$

$n_A =$ número de datos en la muestra A

$n_B =$ número de datos en la muestra B

$\overline{SE} =$ error estándar estimado

Los mismos datos de la tabla 9.2 y la figura 9.3, ahora se presentan en la tabla 9.3 y la figura 9.4, pero incluyendo la variación de cada experimento. Una inspección rápida de los datos sugiere que, en primer lugar, la desviación de la variable dependiente de los experimentos, en este caso la cantidad —en gramos— de frijol producido por planta, es considerable y que las desviaciones estándar de los datos en algunos casos se solapan. Ello sugiere que probablemente los datos no sean tan diferentes entre ellos, como se concluyó (muy a la ligera) en la tabla 9.2 y la figura 9.3. ¿Hay diferencias reales o significativas entre éstos? Para contestarlo se requiere un análisis estadístico específico, llamado prueba t y que se describirá brevemente a continuación.

Fertilizante	Promedio* (x)	Desviación estándar (s)
A	13.9	0.946
B	15.6	1.282
C	15.4	0.784
Sin fertilizante (testigo)	10.6	0.620

Tabla 9.3 Promedios de los resultados consignados en la tabla 9.2, incluyendo la desviación estándar de los datos.

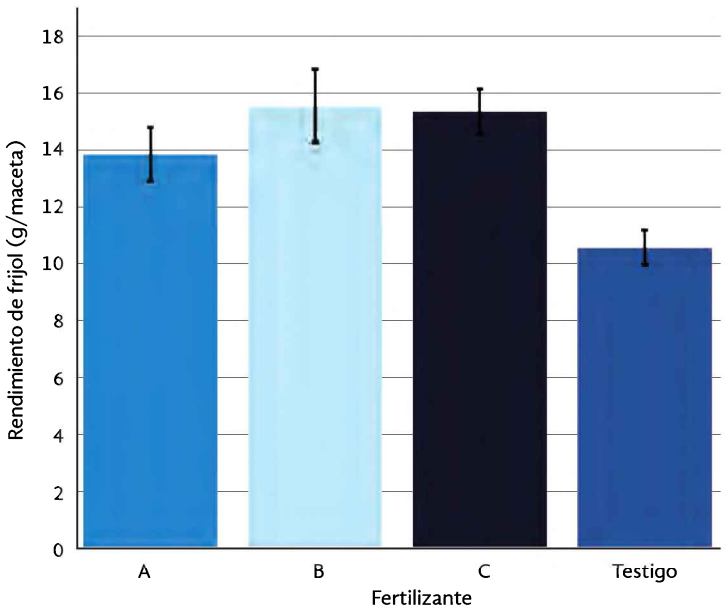


Figura 9.4 Resultados (en forma de gráfica) de los resultados del experimento consignados en la tabla 9.2, incluyendo las desviaciones estándar.

Prueba *t*

Es una de las pruebas estadísticas más útiles y usadas en investigación para discernir si una diferencia entre dos tratamientos es real o significativa.

Para saber si un valor es *significativamente* diferente de otro, se necesita:

a) Conocer las medias (promedios) y desviaciones estándar de cada experimento.
b) Calcular el error estándar de las medias.
c) Establecer un criterio de probabilidad de la significancia.
d) Establecer si, con esa probabilidad, hay diferencias entre las medias, en función de una distribución *t* "estándar".

La prueba de significancia sigue los siguientes pasos, similares al planteamiento de una hipótesis experimental:

Definir la hipótesis nula. Esto se hace en una forma que a primera vista parece contraintuitiva: asumir lo contrario a lo que se quiere probar. La hipótesis nula generalmente se formula de la siguiente manera: la diferencia entre las medias es igual a cero (esto es, los dos grupos de datos tienen la misma media).

Calcular la prueba estadística. El valor calculado de *t* es el número de errores estándar al cual la diferencia entre medias se encuentra del valor de cero. El valor de *t* se calcula usando las ecuaciones descritas en el recuadro 9.1.

Calcular la probabilidad de la significancia. Se debe calcular la probabilidad *P* de que el valor absoluto de la prueba estadística calculado en el paso anterior, fuera igual o mayor que *t*, si la hipótesis nula fuera verdadera.

Decidir si la hipótesis nula se acepta o se rechaza. Esto equivale a comparar el valor calculado de *t*, con aquel establecido para distribuciones *t* "teóricas" (o de tablas) en función de dos parámetros: el porcentaje de confianza y los grados de libertad. La confianza (o significancia) es el nivel de rigor de la comparación. Usualmente, una significancia de entre el 1 y el 5% (95 y 99% de confianza) es el valor que se usa para comparar datos en las ciencias experimentales. En la tabla 9.4 (p. 89) se incluyen los valores críticos de *t* en función de varios niveles de significancia y para diferentes grados de libertad. Los grados de libertad (GL) se definen usando las definiciones del recuadro 9.1, como:

$$GL = n_A + n_B - 2$$

La decisión se toma de la siguiente manera:

– Si el valor absoluto de la *t* calculada, es mayor que el valor de *t* "de tablas", se debe rechazar la hipótesis nula, por lo que se puede afirmar que la diferencia entre las medias es significativamente diferente de cero, es decir, existen diferencias entre los tratamientos.
– Si el valor absoluto de la *t* calculada es menor que la *t* "de tablas", no se tiene evidencia para rechazar la hipótesis nula y, por lo tanto, la diferencia entre las medias no es significativamente diferente de cero. Es decir, los resultados de los tratamientos son iguales.

En los recuadros 9.2 a 9.6 se ilustra el procedimiento, paso por paso, para los datos del experimento de los fertilizantes y la producción de frijol.

Es conveniente usar algún *software* especializado para procesar los datos. Sin embargo, se recomienda a los estudiantes que por primera vez procesan datos de un experimento, que lleven a cabo los cálculos *a mano*, aunque sólo sea una primera vez, con el fin de que dominen y entiendan claramente los conceptos y procedimientos.

Como ahora resulta evidente después de haber hecho la prueba estadística, las conclusiones sobre ese particular experimento son las siguientes:

En términos de la producción de frijol:

– Los fertilizantes A, B y C resultaron mejores, con una confianza del 95 %, que el testigo sin fertilizante.
– El fertilizante B y el fertilizante C no mostraron diferencia estadísticamente significativa entre ellos.

Estas conclusiones son diferentes a las que se habían obtenido simplemente comparando los promedios de los resultados de cada experimento (véase tabla 9.2 y figura 9.2). Por lo tanto, se sugiere el uso de los fertilizantes B o C para mejorar la producción de frijol. La decisión de cuál escoger se basa en otros elementos como el costo, la disponibilidad, etcétera.

La prueba *t* no es la única ni necesariamente la más adecuada para todos los casos de comparación entre datos experimentales o de campo. Dependiendo de las necesidades específicas, el experimentador puede recurrir a otras técnicas más sofisticadas, de las que hay abundantes referencias al respecto (véanse, por ejemplo, las referencias de este capítulo).

Recuadro 9.2 Comparación entre el fertilizante A y el Testigo

$$\overline{SE}_A = \frac{s_A}{\sqrt{n}} = \frac{0.946}{\sqrt{5}} = 0.423$$

$$\overline{SE}_T = \frac{s_T}{\sqrt{n}} = \frac{0.620}{\sqrt{5}} = 0.277$$

$$t = \frac{13.9 - 10.6}{\sqrt{(0.423)^2 + (0.277)^2}} = \frac{3.3}{0.5056} = 6.526$$

$$GL = 5 + 5 - 2 = 8 \quad \text{y} \quad 5\% \Rightarrow \boxed{t_{\text{estándar}} = 2.306}$$

$$6.526 > 2.306 \Rightarrow \text{RECHAZAR HIPÓTESIS NULA} \Rightarrow \text{Las medidas son significativamente diferentes}$$

Recuadro 9.3 Comparación entre el fertilizante B y el Testigo

$$\overline{SE}_B = \frac{s_B}{\sqrt{n}} = \frac{1.282}{\sqrt{5}} = 0.573$$

$$\overline{SE}_T = 0.277$$

$$t = \frac{15.6 - 10.6}{\sqrt{(0.573)^2 + (0.277)^2}} = \frac{5}{0.636} = 7.856$$

$$GL = 8 \quad \text{y} \quad 5\% \Rightarrow \boxed{t_{\text{estándar}} = 2.306}$$

$$7.856 > 2.306 \Rightarrow \text{RECHAZAR HIPÓTESIS NULA} \Rightarrow \text{Las medidas son significativamente diferentes}$$

Recuadro 9.4 Comparación entre el fertilizante C y el Testigo

$$\overline{SE}_C = \frac{s_C}{\sqrt{n}} = \frac{0.784}{\sqrt{5}} = 0.350$$

$$\overline{SE}_T = 0.277$$

$$t = \frac{15.4 - 10.6}{\sqrt{(0.350)^2 + (0.277)^2}} = \frac{4.8}{0.466} = 10.753$$

$$GL = 8 \quad \text{y} \quad 5\% \Rightarrow \boxed{t_{\text{estándar}} = 2.306}$$

$$10.753 > 2.306 \Rightarrow \text{RECHAZAR HIPÓTESIS NULA} \Rightarrow \text{Las medidas son significativamente diferentes}$$

Recuadro 9.5 Comparación entre el fertilizante A y el fertilizante B

$$\overline{SE}_A = 0.423$$
$$\overline{SE}_B = 0.573$$

$$t = \frac{13.9 - 15.6}{\sqrt{(0.423)^2 + (0.573)^2}} = \left|\frac{-1.7}{0.71}\right| = 2.386$$

$$GL = 8 \quad \text{y} \quad 5\% \Rightarrow \boxed{t_{\text{estándar}} = 2.306}$$

$$2.386 > 2.306 \Rightarrow \text{RECHAZAR HIPÓTESIS NULA} \Rightarrow \text{Las medidas son significativamente diferentes}$$

Recuadro 9.6 Comparación entre el fertilizante B y el fertilizante C

$$\overline{SE}_B = 0.573$$
$$\overline{SE}_C = 0.350$$

$$t = \frac{15.6 - 15.4}{\sqrt{(0.573)^2 + (0.350)^2}} = \frac{0.2}{0.450} = 0.443$$

$$GL = 8 \quad \text{y} \quad 5\% \Rightarrow \boxed{t_{\text{estándar}} = 2.306}$$

$0.443 > 2.306 \Rightarrow$ SE ACEPTA LA HIPÓTESIS NULA $\Rightarrow$ Las medidas **NO** son significativamente diferentes

Grados de libertad	Nivel de significancia (%)		
	5	1	0.1
1	12.706	63.657	636.619
2	4.303	9.925	31.598
3	3.182	5.841	12.941
4	2.776	4.604	8.610
5	2.571	4.032	6.859
6	2.447	3.707	5.959
7	2.365	3.499	5.405
8	2.306	3.355	5.041
9	2.262	3.250	4.781
10	2.228	3.169	4.587
11	2.201	3.106	4.437
12	2.179	3.055	4.318
13	2.160	3.012	4.221
14	2.145	2.977	4.140
15	2.131	2.947	4.073

Tabla 9.4 Valores críticos de *t*, en función de varios niveles de significancia y para varios grados de libertad.

Tomado de Ennos, 2000, p. 127

Referencias

Box, George E. P; Hunter, William G.; Hunter, J. Stuart, *Estadística para investigadores. Introducción al diseño de experimentos, análisis de datos y construcción de modelos*, Barcelona, Editorial Reverté, 1988, 675 pp.
Ennos, Roland, *Statistical and Data Handling Skills in Biology*, Londres, Pearson/Prentice Hall, 2000, 132 pp.

Lecturas adicionales sugeridas

Pentz, Mike; Shott, Milo, *Handling Experimental Data*, Philadelphia, The Open University Press, Milton Keynes, 1988, 95 pp. Libro que ilustra, con varios ejemplos, cómo manejar los datos experimentales. Pone énfasis en el tipo de errores, uso de unidades y una descripción básica sobre distribuciones.

Ruxton, Graeme D.; Colegrave, Nick (2003), *Experimental Design for the Life Sciences*, Oxford University Press, 2003, 114 pp. Presenta la forma de diseñar experimentos en términos sencillos y sin los detalles matemáticos. Pone énfasis tanto en el "por qué" como en el "cómo" del diseño experimental. Da recomendaciones específicas sobre cómo planear los experimentos de la mejor manera para obtener el máximo de resultados con el mínimo de pruebas.

Willis, Jackie (2004), *Data Analysis and Presentation Skills. An Introduction for the Life and Medical Sciences*, Chichester, Inglaterra, John Wiley & Sons, 2004, 183 pp. Presenta los conceptos básicos para el análisis estadístico de datos y la forma de llevar a cabo éstos cálculos.

10. LA PRESENTACIÓN DE DATOS

Convencer al público y a los colegas

Nada es verdad ni es mentira,
todo es según el color del cristal
con que se mira

P. Calderón de la Barca

Una vez obtenidos los datos y establecido el error experimental del sistema, ahora hay que procesarlos, organizarlos y presentarlos de manera clara y convincente.

Los datos crudos se presentan en una tabla o en una hoja de una base de datos y se transforman a las unidades relevantes de la variable de respuesta, esto es, lo que se está midiendo como efecto. En esta condición, los datos se pueden presentar en dos formas: en una figura o en una tabla (y deseablemente, no en ambas).

Figuras

Las figuras son muy útiles para presentar datos experimentales y son universalmente usadas en artículos científicos, tesis, reportes, etc. Una figura siempre debe preferirse a una tabla (salvo en pocos casos, descritos en la siguiente sección), ya que los datos, y sus tendencias, pueden apreciarse mejor.

Para la preparación de las figuras existe actualmente una muy amplia variedad de recursos informáticos. Se debe hacer la figura que el experimentador *necesita hacer*, sin importar si hay o no un programa que lo pueda hacer exactamente como se quiere. Siempre existe el recurso de hacerlas *a mano*.

Las posibilidades para representar gráficamente un determinado conjunto de datos son muy variadas y se deben intentar varias de ellas, para convencer (a quien verá y juzgará los datos), de que se escogió la más conveniente y clara para presentar los resultados con plena convicción (y hasta orgullo…).

A continuación se proporcionan algunas recomendaciones útiles para hacer buenas figuras.

Marcar claramente los ejes con el nombre de la variable representada

En la figura 10.1 (p. 94) se incluye, a la izquierda, una gráfica que ilustra la velocidad a la que un objeto cae en caída libre como función del tiempo desde que se dejó caer. En las abcisas esta claramente indicada la variable que se representa (el tiempo) y sus unidades (segundos). En las ordenadas se indica que la variable representada es la velocidad y se indican sus unidades (m/s). A la derecha se muestra una gráfica que ilustra la velocidad a la que crece un determinado cultivo de microorganismos (indicada, con sus respectivas unidades, en las ordenadas) como función de la temperatura de cultivo (indicada en las abcisas) con sus respectivas unidades (°C). Hay que hacer notar que las escalas y sus divisiones están claramente indicadas en cada uno de los ejes.

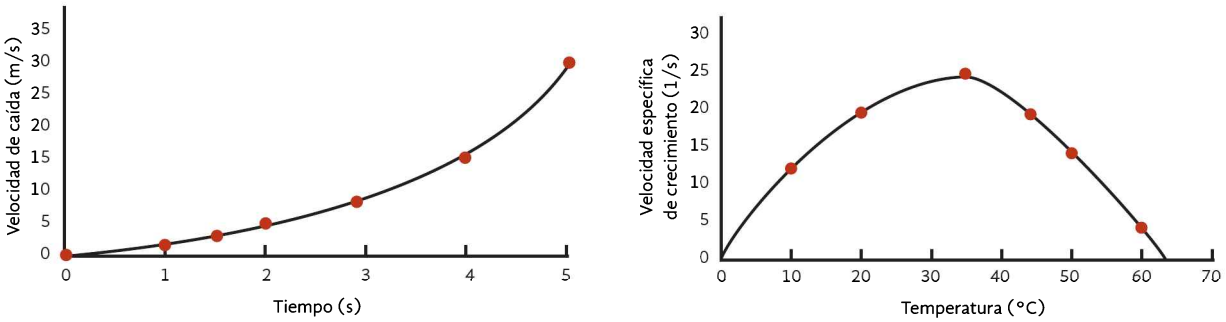


Figura 10.1 Seleccionar las escalas para que los datos aparezcan en el centro de la figura y bien distribuidos.

Seleccionar las escalas para que los datos aparezcan en el centro de la figura y bien distribuidos.

En la figura 10.2 se ilustra la distribución del peso de una determinada población de elefantes en una reserva animal de África. En la gráfica de la izquierda las escalas fueron mal seleccionadas ya que la distribución se ve incompleta y la mayor parte de la gráfica está vacía. La figura de la derecha muestra una mejor selección de las escalas y en donde la distribución se puede apreciar mejor.

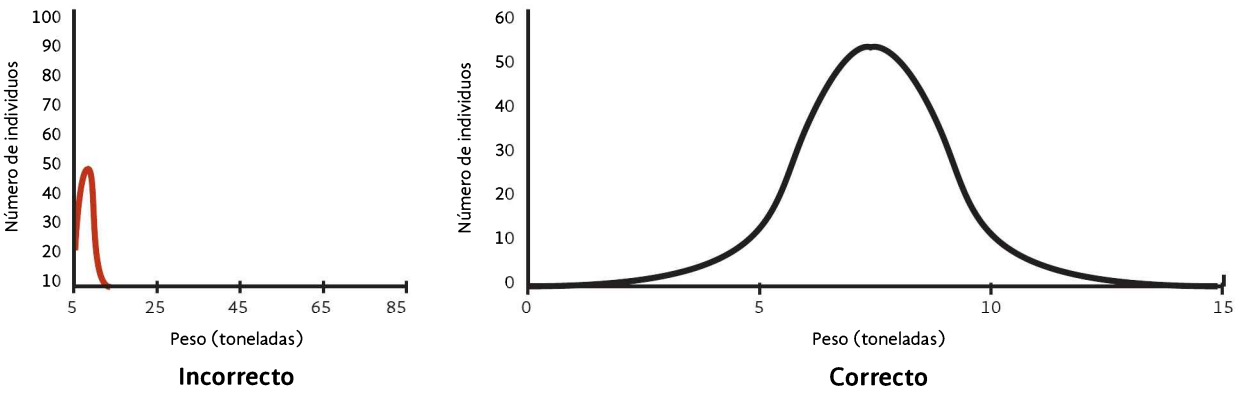


Figura 10.2 Seleccionar las escalas para que los datos aparezcan en el centro de la figura y bien distribuidos.

Representar la variable independiente en las abcisas (eje x) y la variable dependiente en las ordenadas (eje y)

En la figura 10.3 (p. 95) se ilustra que es más lógico incluir la variable independiente, esto es, la que fija el experimentador, en el eje de abcisas y también es más lógico incluir la variable dependiente, esto es, la que mide el experimentador como resultado de haber modificado la variable independiente, en el eje de ordenadas. Por convención, uno interpreta las figuras como que la información se "lee" como lo indican las flechas en la figura de la derecha. La figura de la izquierda contiene exactamente los mismos datos, pero graficados en la forma opuesta. El lector constatará que esta última figura no es fácil de interpretar.

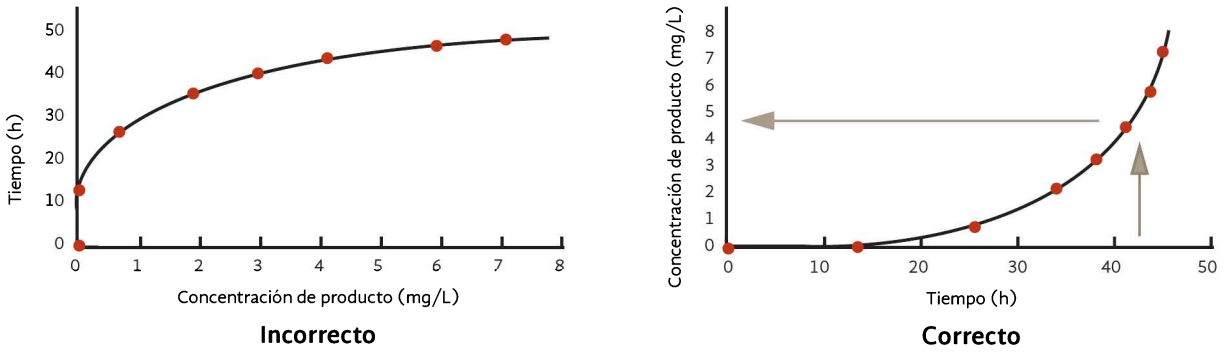


Figura 10.3 Representar la variable independiente en las abcisas (eje x) y la variable dependiente en las ordenadas (eje y).

Usar símbolos claros y del tamaño más grande posible que no distorsione la presentación de los datos

Los símbolos deben ser de menor tamaño que el valor del error experimental. La figura 10.4 (izquierda) muestra una mala selección del tamaño de los símbolos usados para representar un determinado fenómeno: algunos símbolos son demasiado grandes (los círculos del extremo izquierdo), incluso mayores o de la misma magnitud que su desviación estándar y otros son demasiado pequeños (los círculos del extremo derecho). La figura de la derecha incluye una mejor selección del tamaño de los símbolos, en función de la magnitud global de las escalas y las desviaciones estándar de los datos.

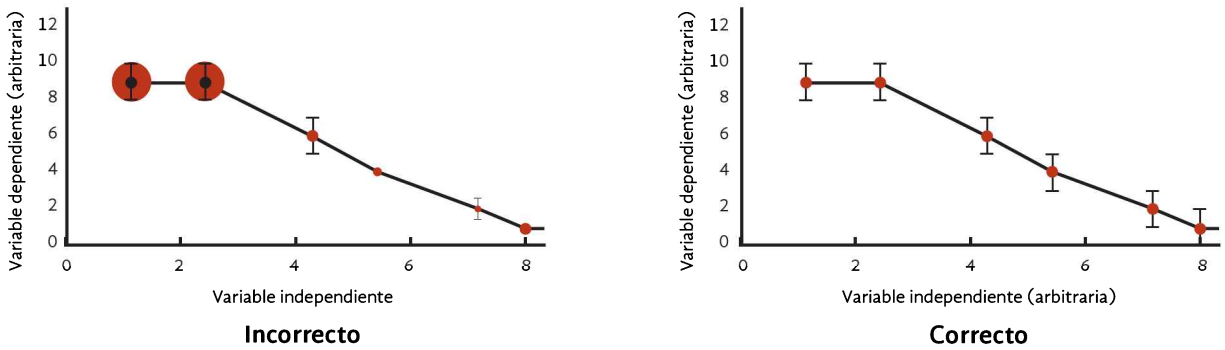


Figura 10.4 Usar símbolos claros y del tamaño más grande posible que no distorsione la presentación de los datos.

Dibujar tendencias más que unir todos los puntos.

En la figura 10.5 (p. 96) ambas gráficas contienen los mismos datos. Sin embargo, la de la izquierda usó la opción de unir todos los puntos, lo que da la impresión de que los datos no tienen una tendencia clara y que los datos parecen seguir un patrón con varias "tendencias" que no son otra cosa que efectos de la representación grafica. La gráfica de la derecha incluyó la tendencia general de los datos, lo que es más representativo de la realidad.

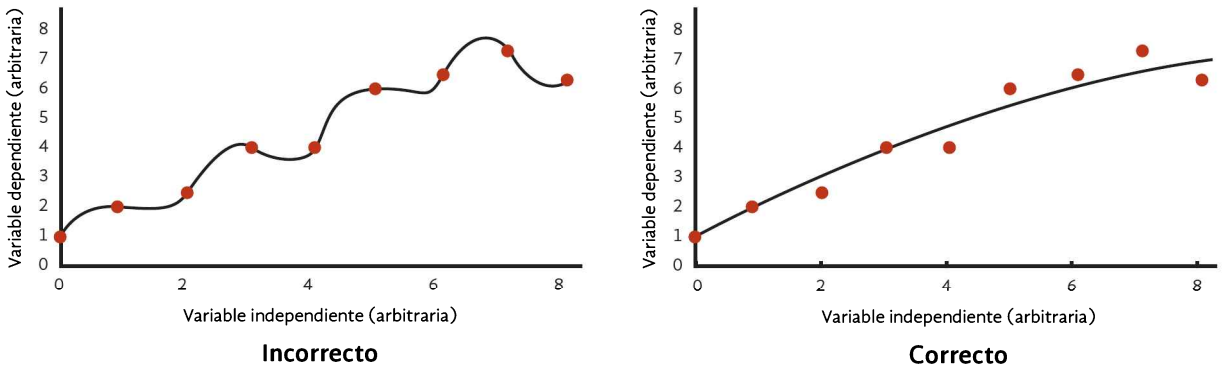


Figura 10.5 Dibujar tendencias más que unir todos los puntos.

Incluir el error experimental y/o la desviación estándar de cada uno de los datos

En la figura 10.6 ambas gráficas contienen los mismos datos experimentales. Sin embargo, en la figura de la izquierda no se incluyó el valor del error experimental y con los datos promedio (que representan los datos individuales representados por puntos) se trazó una tendencia lineal para ellos. En la figura de la derecha, donde se incluyó —como barras de error— la desviación estándar de los datos experimentales respectivos, es evidente que no es adecuado trazar una linea recta para representar la tendencia de los datos, sino más bien una tendencia sigmoidal (o de "escalón") ya que los primeros tres datos no son diferentes en forma significativa entre sí, y lo mismo ocurre con los tres datos finales.

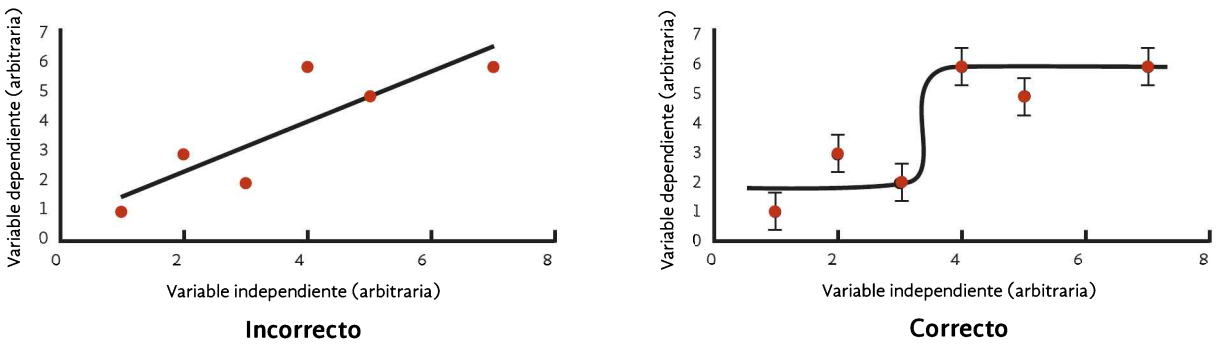


Figura 10.6 Incluir el error experimental y/o la desviación estándar de cada uno de los datos.

Cuando se están representando datos discretos o independientes entre sí, no se deberán unir los puntos con alguna línea de tendencia

En la figura 10.7 (p. 97) se representa la emisión de monóxido de carbono (CO) en función del modelo de un auto de una determinada marca cuando ha pasado la verificación de gases de escape. En la figura de la izquierda se unieron los puntos, lo cual no es lógico ni preciso ya que los datos son discretos (esto es, sólo hay modelos de auto cada año) y entre años no hay ninguna razón para unir los puntos. La figura de la derecha ilustra la manera correcta de presentar datos discretos como el de este ejemplo.

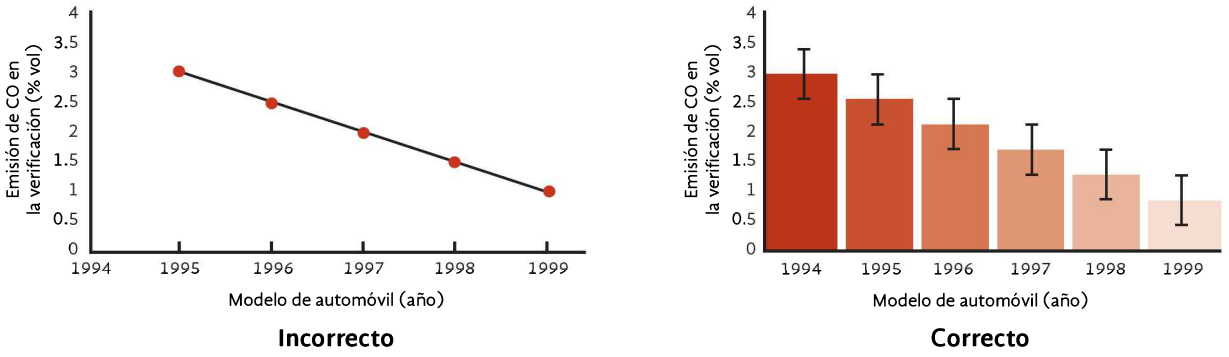


Figura 10.7 Cuando se están representando datos discretos o independientes entre sí, no se deberán unir los puntos con alguna línea de tendencia.

Hay muchas formas de representar datos; puede ser lineal, semilogarítmica, doble logarítmica, etc., y su selección depende de la amplitud del rango que presente tanto la variable independiente como la dependiente. La forma lineal se usa para rangos cortos y diferencias relativamente pequeñas. La semilogarítmica se usa cuando la variable independiente varia en forma lineal, pero la respuesta de la variable independiente varía en forma exponencial. La doble logarítmica se usa para representar variaciones de órdenes de magnitud en ambas variables, independiente y dependiente.

La figura 10.8 ilustra tres formas para representar datos en función de las escalas que se usen. La (A) muestra la forma lineal (en los dos ejes) para un caso que no es adecuado (superior) en donde para usar la escala lineal, los respectivos ejes tuvieron que cortarse para acomodar todo el rango de datos. En este caso hubiera sido

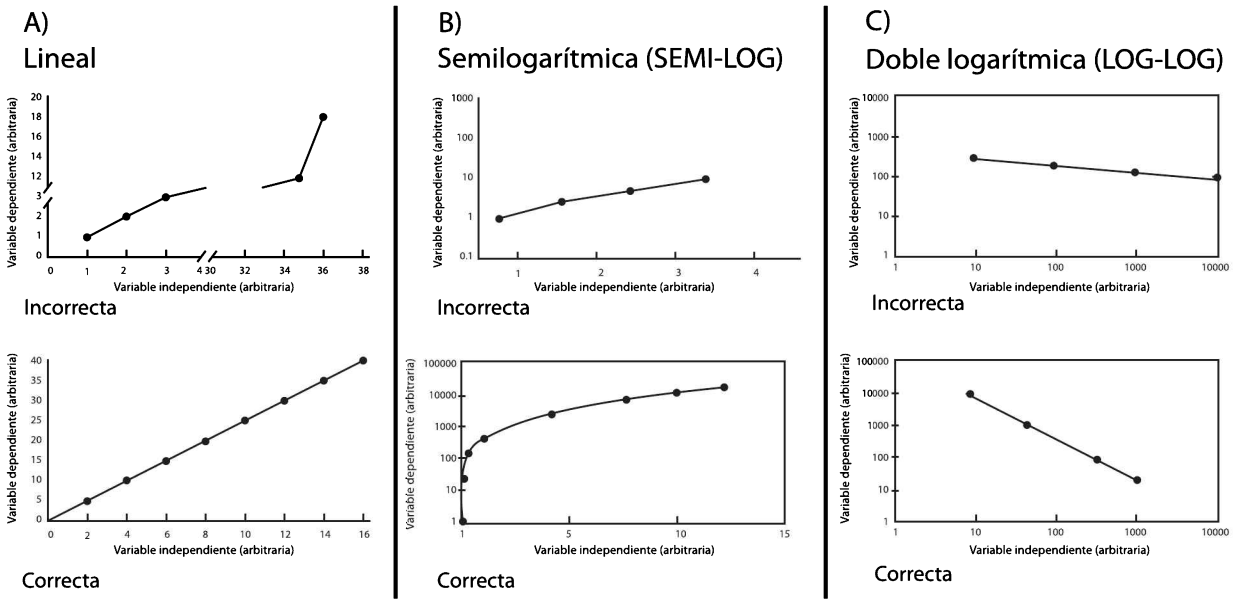


Figura 10.8 Formas para representar datos en función de las escalas.

mejor usar una escala semi-logarítimica. La figura (A, inferior) muestra un uso conveniente de la escala lineal.

La figura 10.8 (B) muestra la forma semilogarítmica cuando se usa mal (figura superior), ya que los datos en el eje de las ordenadas tienen un rango para el que no es necesario usar una escala logarítmica. Lo único que se logra es minimizar el posible efecto que tuviera la variable independiente sobre la dependiente. En la figura B (inferior) se muestra una buena selección de la escala semi-logarítmica para los datos graficados: la variable dependiente tuvo una variación de varios órdenes de magnitud para cambios lineales en la variable independiente.

La figura 10.8 (C) ilustra el caso de las gráficas doble-logarítmicas. En el caso superior, la escala en el eje de las ordenadas fue mal seleccionado ya que su rango no justifica el uso de una escala logarítmica y el efecto sobre la variable dependiente se enmascara (y casi se pierde) debido a la escala mal seleccionada. En el caso C (inferior) se ilustra una buena selección de la escala doble-logarítmica. Hay que ser muy cauteloso en particular con esta última forma de representar datos ya que sólo es adecuada cuando una variable independiente que varía en varios órdenes de magnitud, tiene efectos también en varios órdenes de magnitud en la variable dependiente. En otros casos, lo único que se logra con este tipo de gráficas, es hacer poco evidentes los efectos.

No sobrecargar de datos las figuras

Es preferible hacer varias figuras para presentar diferentes aspectos de los datos. Es muy útil usar paneles diferentes para representar la variación de varias variables dependientes en función de la misma variable independiente.

En la figura10.9 se representan datos ex-

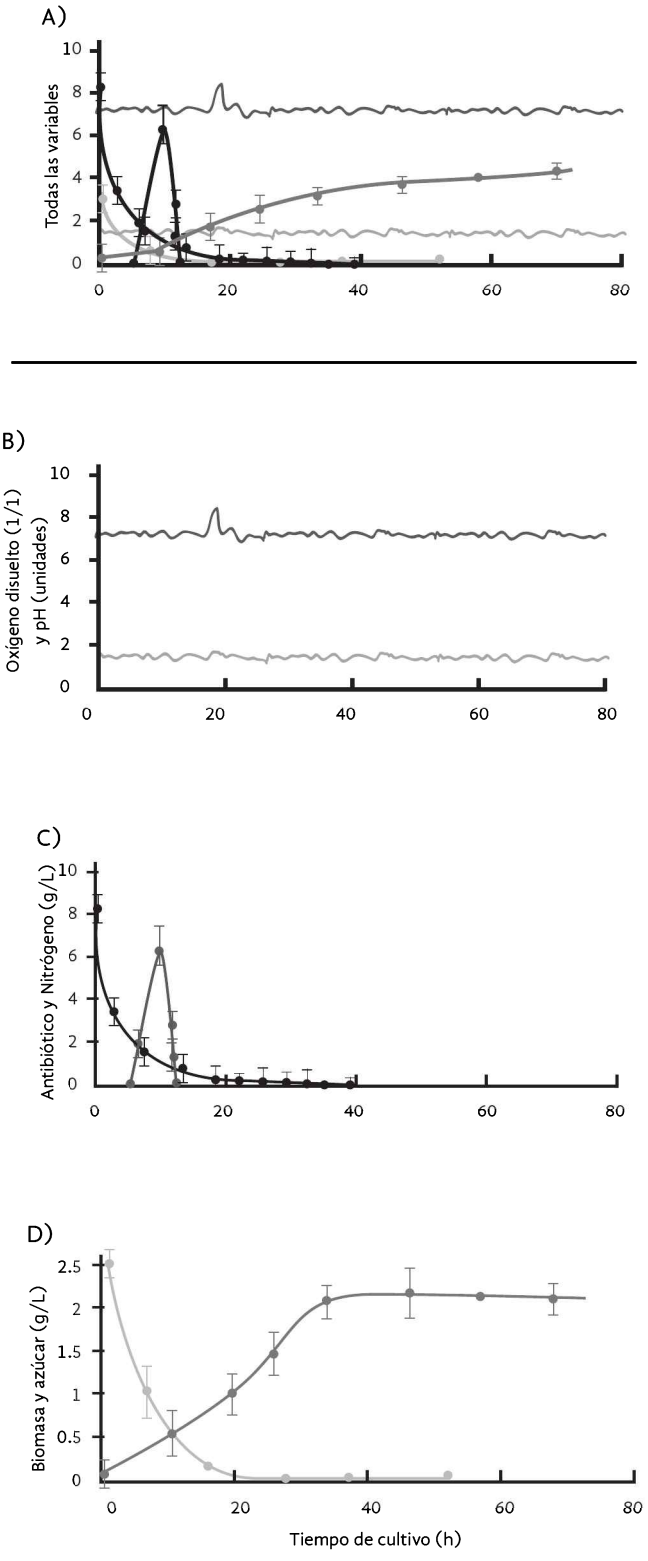


Figura 10.9 Al comparar datos de varias gráficas, asegurar que la escala y el tamaño relativo en la gráfica sean idénticos.

perimentales de un cultivo microbiano que se desarrolla en un fermentador. Se ilustra una figura sobrecargada de datos y difícil de entender e interpretar (A) y los mismos datos graficados en tres paneles (B, C y D) en donde es más fácil su lectura e interpretación. Se sugiere agrupar los datos de tal manera que facilite las comparaciones. Por ejemplo, en el panel (B) se representaron las variables fisicoquímicas que se midieron o controlaron continuamente (usando sensores específicos) como el oxígeno disuelto y el pH. Por su parte, en el panel (C) se graficó la producción de un compuesto de interés (por ejemplo, un antibiótico) al lado del consumo de otro nutriente (en este caso, el nitrógeno). Finalmente, en el panel (D) se representan los datos del crecimiento de la bacteria y su consumo de azúcar. Es muy importante resaltar que es indispensable que en este tipo de gráficas la escala usada en las abcisas sea idéntica en todos los paneles.

Cuando se comparen datos en varias gráficas, asegurarse de que la escala, y su tamaño relativo en la gráfica, sean idénticos

Es un error muy común tratar de comparar una determinada variable dependiente en una gráfica cuyo rango va de 1 a 10 y que cada unidad mide, por ejemplo, 5 mm, con otra cuyo rango es de 10 a 100 y que cada unidad mide, por ejemplo, 1 mm.

En la figura 10.10 se representaron datos en dos figuras cuyas escalas son diferentes (tanto en rango como en la dimensión de la escala). Para ilustrar la dificultad de comparar ambos conjuntos de datos se graficaron los datos de una en la escala de la otra y viceversa.

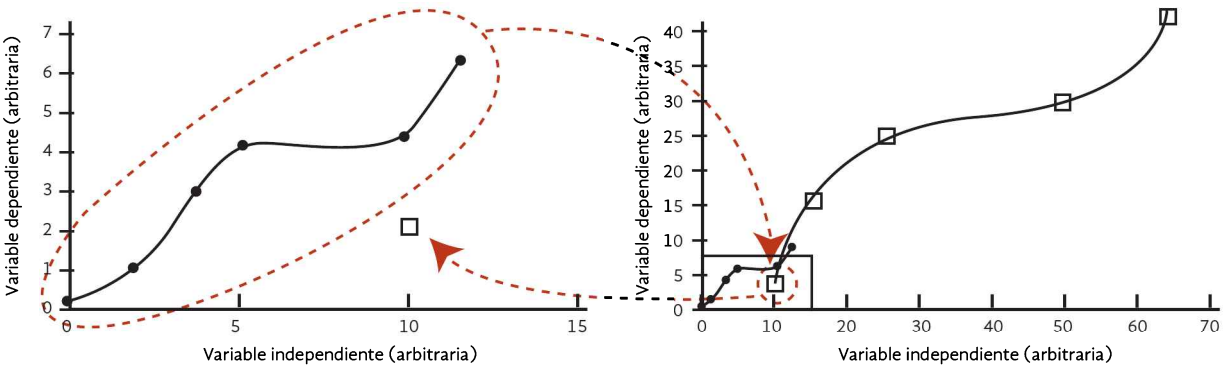


Figura 10.10 Gráficas con escalas diferentes.

Representar gráficamente los datos en cuanto se generen

No se debe esperar a completar una colección exhaustiva de datos. Esto tiene la ventaja de identificar posibles *huecos* en los datos o bien ayudar a definir mejor, para experimentos subsiguientes, los valores de la variable independiente (esto es, la que el experimentador fija).

La figura 10.11 (p. 100) ilustra, en forma hipotética, la conveniencia de representar los datos conforme se vayan obteniendo. Si no se hubiesen obtenido —en primera instancia— los puntos indicados con flechas y en su lugar el experimentador se hubiera inclinado por obtener datos como los que se ilustran en los tres

recuadros inferiores, es posible que no hubiera descubierto (al menos en el mínimo de tiempo) la tendencia global de los datos. Así, probablemente hubiera hecho demasiados experimentos en donde no habría encontrado gran cosa (extremos de la curva) o bien no se hubiera percatado de las mesetas presentes en ambos lados de los datos globales (y desconocidos antes de iniciar la experimentación).

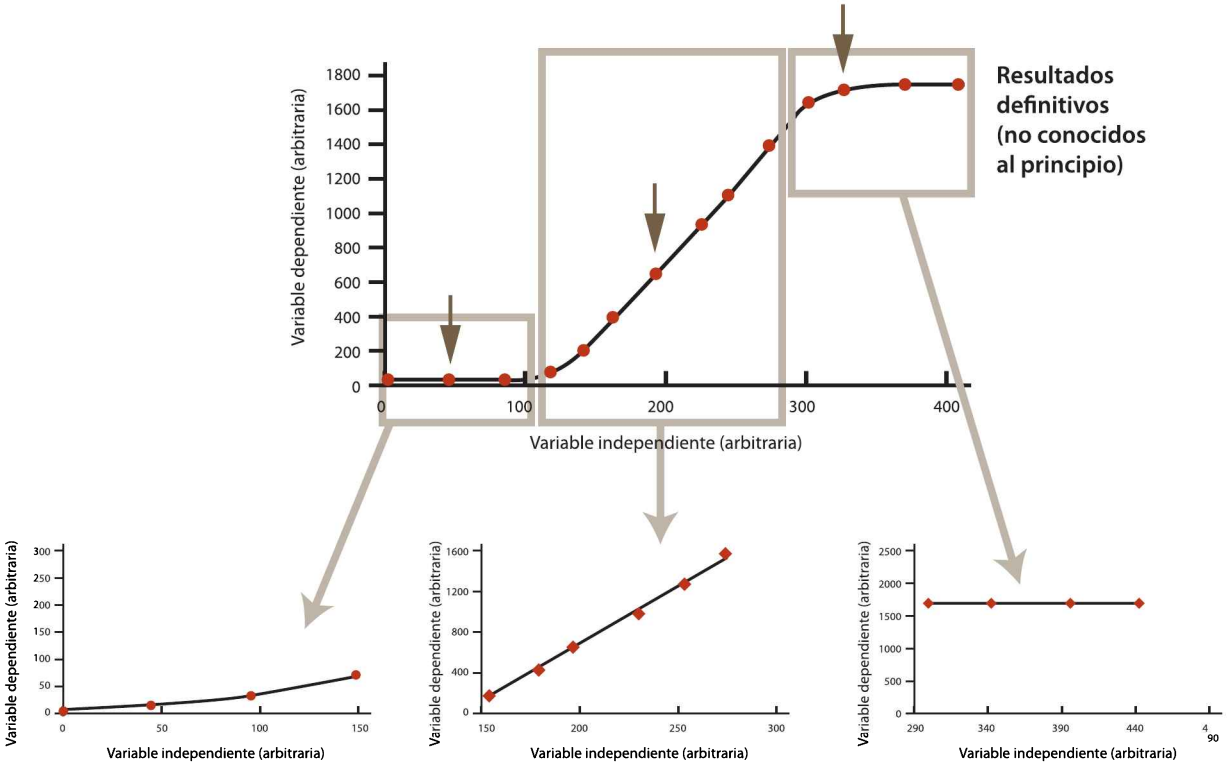


Figura 10.11 La secuencia de obtención de datos puede ser importante para determinar las tendencias más relevantes.

Ilustrar y comparar los datos para mostrar el efecto que se quiere

En la figura 10.12 (p. 101), ambas gráficas ilustran el mismo conjunto de datos. El experimentador quiere (y puede) demostrar que hay un efecto importante de la variable independiente sobre la dependiente. Sin embargo, si selecciona la escala semilog de la figura de la izquierda difícilmente convencerá a alguien de que ése es el caso. La escala logarítmica no es conveniente para ilustrar cambios que se encuentren dentro de un mismo orden de magnitud. Por el contrario, si usa una escala como la que se ilustra en la parte derecha, será fácil de convencer que, en verdad hay un efecto importante (asumiendo que las desviaciones estándar de los datos son de la misma magnitud que el tamaño de los puntos experimentales).

Usar todas las combinaciones y recursos posibles (y apropiados) para mostrar los datos (y los argumentos que se derivan de ellos de la forma más clara, elegante y elocuente posible)

En la figura 10.13 (p. 101) se ilustra un caso en donde se usaron varios recursos para mostrar un conjunto de datos de diferentes tipos. Esta figura ilustra los resultados procesados de un experimento en el que se

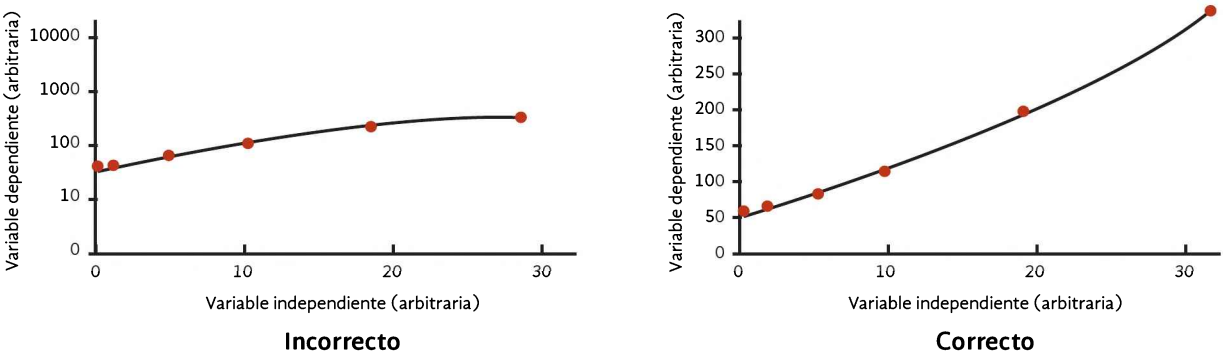


Figura 10.12 Gráficas que ilustran el mismo conjunto de datos.

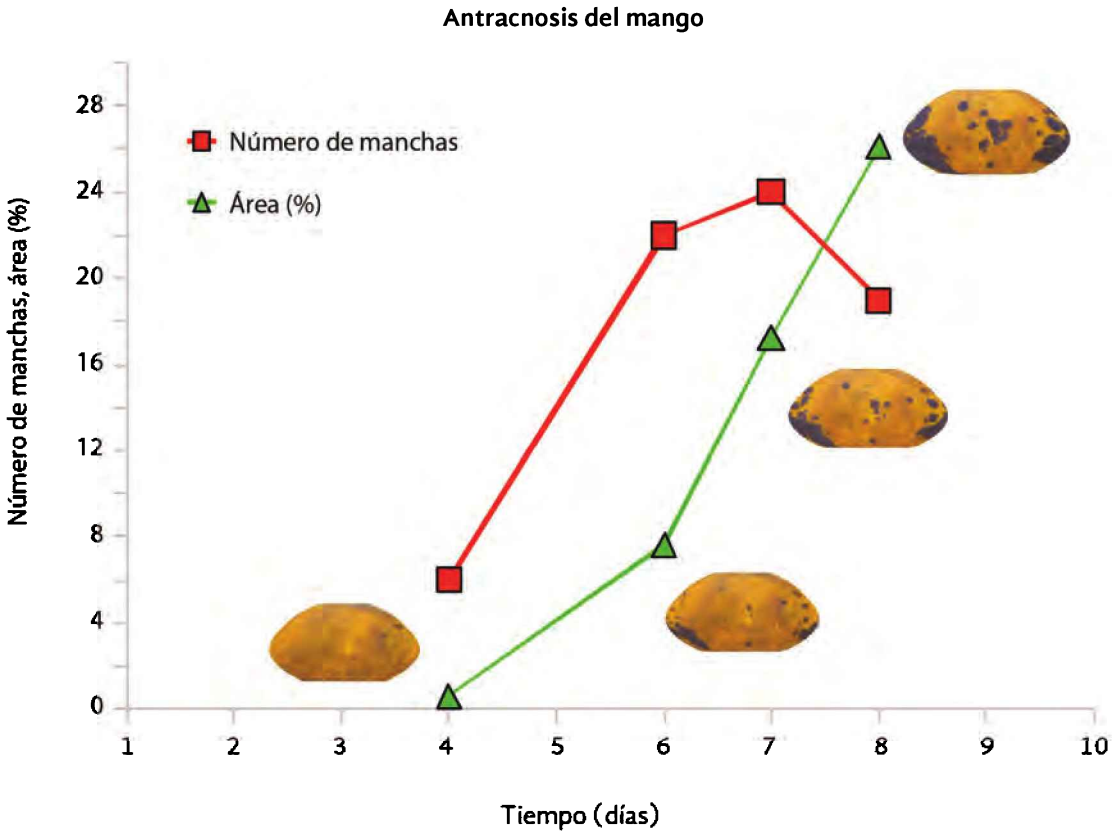


Figura 10.13 Resultados de un experimento que consistió en evaluar cómo evolucionaban las manchas de un mango causadas por un hongo (enfermedad llamada "antracnosis"). Se utilizó un sistema de análisis de imágenes para evaluar el tamaño de las manchas de la antracnosis de forma cuantitativa y precisa, permitiendo conocer el área afectada de la cáscara del fruto y el número de manchas que se desarrollan conforme va madurando el mango. Ésta es una gráfica de dos ejes en donde el eje de abscisas muestra el tiempo transcurrido después de la infección del fruto con el hongo junto con la imagen y el eje de ordenadas representa el número de manchas o el porcentaje del área total del fruto infectado. Los datos del experimento en esta gráfica muestran cómo se fue incrementando la severidad de los síntomas de la antrancosis, y cómo primero aumentó y luego aparentemente disminuyó el número de manchas en el fruto. Sin embargo, con las cartografías en el eje de abscisas se puede demostrar que la aparente disminución en el número de manchas se debe a que el sistema considera como una sola mancha un conjunto de manchas de antracnosis cuyos perímetros convergieron y formaron una mancha más grande.

obtuvieron datos de diferentes tipos. El experimentador tiene que hacer uso de todos los recursos (electrónicos o manuales) y de su creatividad, para construir las mejores gráficas posibles con sus datos.

Desde luego, no hay forma de ilustrar todas las posibilidades. Hacer una gráfica clara, representativa y precisa es una actividad que se aprende y refina con la práctica. Se recomienda que los estudiantes busquen varias maneras de representar los datos y pregunten a otros estudiantes y asesores cuál es la gráfica que mejor transmite lo que se quiere decir.

Tablas

Las tablas son útiles cuando es necesario dar mayor precisión a los valores que se presentan; deben usarse sólo si no se encuentra la forma de incluir los mismos datos en forma de gráfica. Éstos son pocos casos, e incluyen:

– Cuando los datos no son suficientes para hacer una buena gráfica.
– Para mostrar valores numéricos específicos.
– Para mostrar datos complejos que involucran varios componentes.
– Para enfatizar diferencias en promedios de datos numerosos.

Algunas recomendaciones útiles para hacer tablas efectivas y claras son:

– Incluir el título de la tabla en la parte superior de ella. Es la convención más aceptada.
– Deben ser autoexplicativas, esto es, su título debe bastar para entender su contenido.
– Poner las unidades de las variables sólo una vez, por ejemplo, en el encabezado de una determinada columna y no repetirlas en toda la columna.
– Alinear bien las columnas y filas.
– No usar recuadros ni líneas verticales para separar columnas. Las líneas horizontales son útiles para separar grupos de datos organizados en filas.

Correcto

Tabla 10.1 Efecto de la cantidad de hormona TRH sobre el tiempo de narcosis por alcohol, en función de la dosis de alcohol

TRH (mg/k peso)	*Dosis de alcohol (mg/k peso)*	*Tiempo de narcosis (min)*
0	10	20
	20	30
	30	50
5	10	15
	20	25
	30	35
10	10	5
	20	10
	30	15

Incorrecto

Tabla 10.1 Efecto del TRH sobre la narcosis por alcohol

TRH	*Alcohol*	*Tiempo (días)*
0 mg/kg	10 mg/kg	0.0138888
0 mg/kg	20 mg/kg	0.0208333
0 mg/kg	30 mg/kg	0.0347222
5 mg/kg	10 mg/kg	0.0104166
5 mg/kg	20 mg/kg	0.0173611
5 mg/kg	30 mg/kg	0.0243055
10 mg/kg	10 mg/kg	0.0034722
10 mg/kg	20 mg/kg	0.0069444
10 mg/kg	30 mg/kg	0.0104166

– Redondear siempre los valores a aquellos que sean significativos. Es un error común que se incluyan los valores tal cual son calculados por una determinada hoja de cálculo sin especificar el número de cifras que son significativas para un determinado conjunto de datos y que desde luego no pueden exceder a la precisión de los instrumentos de medida.

En la tabla 10.1 (dos versiones), incluida en la página anterior, se ejemplifican estas sugerencias.

Fotos

En ocasiones los datos —o parte de ellos— son imágenes y hay que incluir fotografías para ilustrarlos. Éstas deben ser de la mayor calidad posible y deben mostrar claramente lo que se quiere probar o evidenciar. Cuando las fotos son de imágenes tomadas al microscopio se deberá incluir una barra horizontal indicando la escala de medida que permita tener un marco de referencia. Para mostrar un efecto, la comparación debe ser hecha a la misma ampliación. Se deberán incluir, sobre la imagen, indicaciones como flechas, círculos, etc., que ayuden a identificar los elementos relevantes o en los que se quiera enfatizar. Es común que se usen fotos incluidas en figuras o bien en recuadros dentro de ellas.

La figura 10.14 muestra un ejemplo en el que es indispensable combinar fotos y figuras para evidenciar los resultados experimentales.

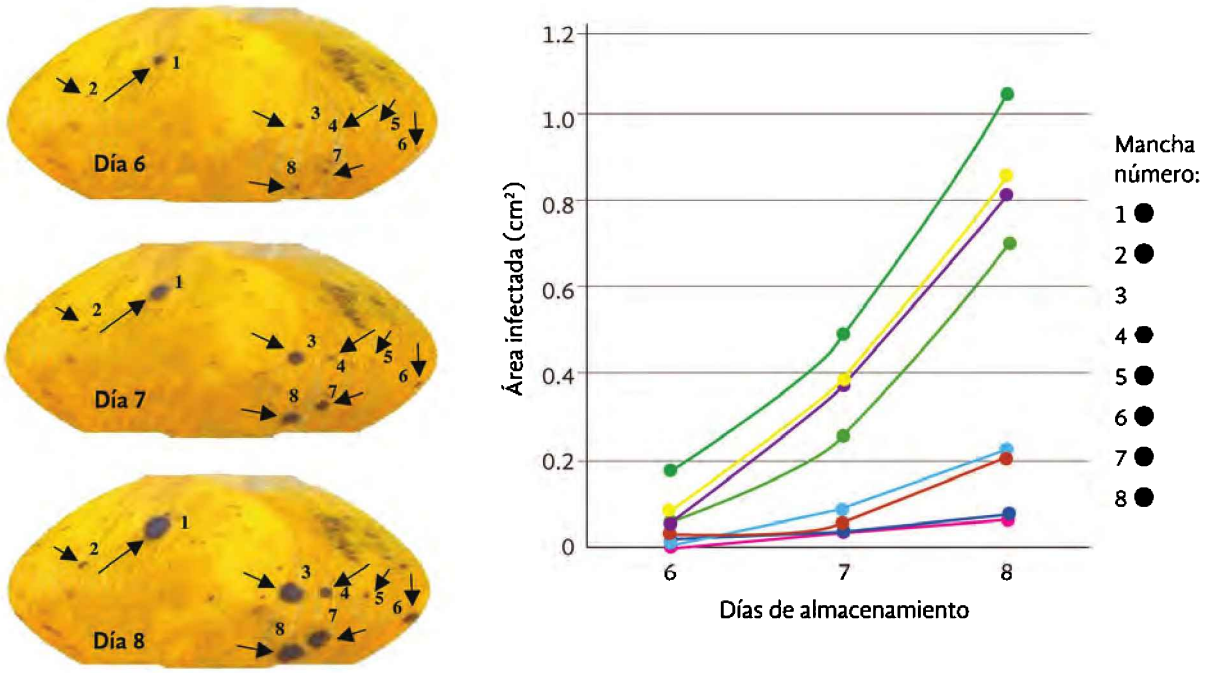


Figura 10.14 En esta figura se muestran datos e imágenes de la evolución del tamaño de las manchas ocasionadas por un hongo en la cáscara de un mango, en función del tiempo de almacenamiento del fruto. Las fotos de la izquierda son cartografías del mismo mango obtenidas de un fruto que presentaba la enfermedad llamada "antracnosis" (causada por el hongo) y en donde se identifican con números las diferentes manchas de interés. La figura de la derecha muestra en forma de una gráfica la evolución del área (en cm^2) de cada una de las manchas individuales consideradas.

Lecturas adicionales sugeridas

Barrass, Robert, *Scientists Must Write. A Guide to Better Writing for Scientists, Engineers and Students*, Londres, Chapman & Hall, 1978, 176 pp. Los capítulos 9 ("Numbers Contribute to Precision") y 10 ("Illustrations Contribute to Clarity") dan recomendaciones prácticas y ejemplos sobre cómo hacer mejores tablas y mejores figuras.

Booth, Wayne C.; Colomb, G. Gregory; Williams, Joseph M., *The Craft of Research*, 3ª ed., Londres, University of Chicago Press, 2008. El capítulo 15 ("Communicating Evidence Visually") proporciona sugerencias muy útiles sobre cómo preparar tablas y figuras. Con ejemplos en los que es posible comparar la presentación de los mismos datos en formas "deficientes" y "convenientes".

Davis, Martha, *Scientific Papers and Presentations*, San Diego, Academic Press, 1997, 295 pp. El capítulo 11 ("Presenting Data") proporciona sugerencias y da ejemplos sobre la preparación de tablas y figuras.

O'Connor, Maeve, *Writing Successfully in Science,* Londres, Chapman & Hall, 1991, 229 pp. Los capítulos 3 y 4 dan consejos muy útiles para preparar mejores tablas y figuras.

Pentz, Mike; Shott, Milo, *Handling Experimental Data*, Philadelphia, The Open University Press, Milton Keynes, 1988, 95 pp. Libro que ilustra, con varios ejemplos, recomendaciones para hacer mejores y convincentes gráficas.

Willis, Jackie, *Data Analysis and Presentation Skills. An Introduction for the Life and Medical Sciences*, Chichester, Inglaterra, John Wiley & Sons, 2004, 183 pp. El capítulo 3 da una detallada guía y algunos ejemplos del uso de Excel para preparar una gran variedad de tipos de figuras.

11. LA COMUNICACIÓN (ESCRITA)

El informe final y la publicación

En ciencia, el crédito lo tiene el hombre que convence al mundo, no al que la idea se le ocurrió primero

Sir William Osler

Publish or perish (Publicar o perecer)

Científico contemporáneo

Ninguna investigación está completa si no se escribe y eventualmente se publica un informe final. Puede ser el informe del trabajo desarrollado en una tesis o un artículo de investigación. En cualquier caso, hay ciertos elementos comunes sobre los que se juzga la calidad de un informe final de investigación:

– calidad del resumen,
– amplitud y nivel crítico de la revisión bibliográfica,
– grado creativo e innovativo,
– solidez y congruencia de la propuesta metodológica,
– rigor, cuidado y precisión en el desarrollo experimental,
– volumen y calidad de los resultados obtenidos,
– rigor y extensión en el análisis de los datos,
– claridad en la presentación de los resultados,
– calidad del texto, figuras y tablas,
– contundencia de las conclusiones,
– calidad del idioma (sintaxis, puntuación, etcétera).

Estos elementos deben tomarse en cuenta cuando se está preparando el informe final de un trabajo de investigación, cuya estructura se resume en la figura 11.1.

La *forma* del informe final tiene una estructura muy parecida a la del proyecto de investigación (véase figura 7.1, p. 59). El proyecto es la principal *materia prima* para elaborar el informe final. Mientras mejor haya sido elaborado, más fácil resulta la integración del informe final. Las principales diferencias son los datos experimentales obtenidos, su análisis y las conclusiones.

- Título
- Autores y su adscripción
- Resumen
- Introducción
- Antecedentes
- Metodología
  - Estrategia experimental
  - Materiales
  - Equipos
  - Procedimientos analíticos y/o instrumentales
- Resultados } o bien, • Resultados y discusión
- Discusión }
- Conclusiones (y, en ocasiones, • Recomendaciones)
- Referencias
- Agradecimientos / Reconocimientos
- Anexos

Figura 11.1 Estructura típica de un informe final de un trabajo de investigación.

La *Introducción*, los *Antecedentes* y la *Metodología* que se incluyen en un informe final son generalmente versiones actualizadas y mejoradas de aquellas que se redactaron para el proyecto. Puede haber excepciones cuando el proyecto tuvo variaciones considerables a lo largo de su desarrollo o simplemente se cambió de tema, pero para lo cual se debió escribir un nuevo proyecto.

La integración del informe final, tesis o manuscrito, incluye la redacción y estructuración de los elementos indicados en la figura 11.1. Los principales aspectos que hay que considerar en un informe son:

Título

En una publicación, el título puede marcar la diferencia para que el trabajo sea detectado y leído por la comunidad científica. El título debe ser lo más corto posible y que indique claramente de lo que trata el trabajo. Debe reflejar el trabajo desarrollado y ser congruente con el resto del texto. Es el resultado de aproximaciones sucesivas. Se escribe un título preliminar y se va mejorando y afinando conforme se escriben las otras partes del informe, tesis o manuscrito.

Resumen

Es lo que primero aparece después del título, pero es lo último que se escribe. El resumen, aunque parezca lugar común, debe ser corto, breve y sustancioso. En una publicación, es lo primero que lee otro científico especializado en el campo y es en función de su contenido que decide leer, o no, el artículo completo. El título pudo haber sido suficientemente convincente para atraer a un lector, ahora el resumen debe ser suficientemente claro y contundente para que el lector lea el artículo completo.

La extensión del resumen casi nunca debe exceder de una página (cuartilla) y debe enfatizar los aportes del trabajo. Es un error pensar que el resumen es un extracto de todas las secciones del trabajo. Los aspectos de *Introducción*, *Antecedentes* y *Metodología* sólo se incluyen marginalmente (salvo en muy contados casos en los que ciertas revistas lo solicitan). Casi nunca incluye referencias bibliográficas, salvo en el caso —por ejemplo— de que se refuten los datos de otro trabajo. Es conveniente escribir un *Resumen de trabajo*. Esto permite al estudiante o investigador poner en orden las principales ideas generales y la filosofía del trabajo a escribir. La versión final del resumen se logra también por aproximaciones sucesivas. La parte del informe final que más se revisa y del que más versiones preliminares se preparan es la del resumen. Su revisión es exhaustiva, no en términos de ideas y resultados, sino en términos de la meticulosidad de la redacción. Es, en suma, el trabajo condensado y se procura que sea de la más alta calidad.

Introducción

Como en el proyecto, esta sección debe justificar la razón e importancia del trabajo, aunque en el contexto de lo que finalmente se obtuvo. Durante el desarrollo del proyecto pudieron haber aparecido publicaciones relacionadas o similares al tema del trabajo que deberán ser incluidas y revisadas críticamente aquí.

Antecedentes

Es crítico actualizar las referencias bibliográficas con que se cuente hasta ese momento. A lo largo de un proyecto experimental pueden aparecer nuevas publicaciones sobre el tema de estudio. En un escenario nada agradable para un estudiante o investigador, es posible que se haya publicado un trabajo muy similar (o peor aún, idéntico) al que se está desarrollando. En este infortunado caso, habrá que replantear el proyecto original o, en el caso extremo, abandonarlo e iniciar otro.

Metodología

La primera versión se genera de lo que originalmente se escribió en el proyecto. Sin embargo, la versión final tiene cambios y adiciones importantes, respecto a ella.

Es generalmente útil presentarla en los siguientes rubros:

a) estrategia experimental
b) materiales
c) equipos
d) procedimientos analíticos y/o instrumentales

Estrategia experimental. Debe incluir la forma general respecto a cómo se abordó finalmente el problema desde el punto de vista experimental. Es común, y útil, esquematizar la estrategia experimental en, por ejemplo, un diagrama lógico de flujo. Es importante no confundir la estrategia experimental con el simple listado de procedimientos.

Materiales. Se describen, con el mayor detalle posible, los materiales usados en el proyecto. Se proporcionan fuentes de donde se obtuvieron y se debe indicar, cuando sea el caso, el proveedor y número de catálogo. Siempre que sea posible, se consigna el número o clave del lote utilizado en los experimentos.

Equipos. Se incluye una descripción detallada de los equipos e instrumentos usados en la investigación. En el caso de las tesis e informes, se pueden adjuntar fotografías o esquemas de ellos. Se consignan datos de la marca, el modelo, la casa constructora y el lugar de fabricación. En el caso de los equipos o instrumentos diseñados o construidos especialmente para el proyecto, se incluirán detalles como esquemas, principio de funcionamiento y características principales.

Procedimientos analíticos y/o instrumentales. Incluyen la metodología detallada de cómo se llevó a cabo un determinado análisis o medición. Los procedimientos en detalle se pudieron haber tomado de otras tesis o documentos, por lo que no es necesario repetirlos, sino indicar la fuente original. Si se usaron procedimientos descritos en otros documentos pero con modificaciones o adecuaciones, éstas se tienen que detallar aquí. Además se agregan los procedimientos paso a paso, las curvas de calibración y los estándares que se usaron. Si los procedimientos resultan tediosos y su descripción voluminosa, es muy adecuado presentar los principos generales de medición y las referencias a los artículos o documentos que describen la medición, e incluir en un anexo los detalles paso a paso de los procedimientos.

Para los manuscritos de artículos científicos, la descripción de la metodología debe ser particularmente breve y concisa: en general sólo se menciona el método y la referencia bibliográfica respectiva.

Resultados y discusión

Es la parte más crítica en cualquier informe de investigación, pero también es la más interesante, ya que es donde se logra transformar los *datos* en *información*.

Es posible y a veces necesario, escribir primero los *Resultados* y en una sección aparte, la *Discusión*. Depende del tipo de trabajo, de la facilidad y conveniencia con que puedan separarse ambas secciones y de las restricciones que imponen algunas revistas científicas al respecto. Es casi siempre más conveniente redactar estas subsecciones en forma conjunta, en particular por minimizar la repetición de texto e ideas.

Dada la gran variedad de tipos de datos y enfoques que un proyecto en particular puede tener, resulta muy difícil plantear reglas generales y esta actividad requiere creatividad y experiencia del estudiante o investigador. Algunos elementos útiles al escribir los *Resultados* y la *Discusión* son:

– Los resultados deben presentarse en un orden lógico y no cronológico.
– No se deben incluir, forzosamente, todos los datos generados.
– Concentrarse en los datos más importantes y sólidos que prueban o refutan la hipótesis.
– Ser autocrítico con los datos generados.
– Demostrar la reproducibilidad y fiabilidad de los datos o justificar por qué no existen estas cualidades y si pueden usarse para obtener conclusiones.
– Los resultados deben tener relación directa con los objetivos planteados.
– Debe decirse explícitamente por qué la información es original y por lo tanto no ha sido publicada previamente.
– La *Discusión* (o interpretación) debe contestar las preguntas: ¿qué significan los resultados?, ¿por qué son como son? y ¿cuáles son sus implicaciones?
– Guiar al lector, con una secuencia lógica de ideas, para convencerlo del argumento o idea que se está planteando.
– Presentar los hechos, comentarlos, sobre todo a la luz y en comparación de resultados previos, e interpretarlos.

Conclusiones

Resumen de lo que se obtuvo en el trabajo de forma relevante y significativa. Reportan, breve y concisamente, el avance particular del conocimiento que se logró en el proyecto. La mejor forma de presentarlas es en forma de lista, yendo de lo particular a lo general. Aunque parece obvio, conviene enfatizar algunas consideraciones. Las conclusiones deberán:

a) Restringirse fielmente al trabajo presentado.
b) Redactarse de la forma más concreta y precisa posible.
c) Distinguir aquellas conclusiones de carácter metodológico de aquéllas del fenómeno estudiado.

d) En algunos casos —sobre todo en algunas revistas— hay que incluirlas de forma no explícita como tales, dentro de la sección de *Resultados* y *Discusión*.

En el caso de informes de tesis es conveniente incluir una sección de *Recomendaciones* que sugieran continuidad de la investigación.

Referencias

Deben listarse impecablemente las publicaciones que finalmente fueron útiles para justificar y discutir el trabajo realizado. Se incluyen las referencias que fueron usadas en el proyecto (excepto las que no hayan sido relevantes), más las que aparecieron en el transcurso de la investigación. Es fundamental, como en el protocolo, que las referencias se escriban con detalle y cuidadosamente, incluyendo todos los datos necesarios para su localización.

En algunas revistas sólo se aceptan como referencias artículos publicados en revistas científicas. Cuando es necesario incluir manuscritos en proceso, usualmente los editores solicitan una copia del mismo. En informes internos y tesis, las referencias no se restringen a artículos publicados, sino que pueden incluir otras tesis, "comunicaciones personales", páginas de Internet, etcétera.

En todos los casos, las referencias deben tener los datos completos para su identificación y localización, deben corresponder fielmente a las que se citan en el texto y todas deben escribirse usando un solo estilo.

Agradecimientos / Reconocimientos

En esta sección se nombra a todas las personas y/o instituciones que contribuyeron de forma relevante al proyecto de investigación. Se debe indicar claramente el tipo de apoyo o participación. Aquí es donde se reconoce y agradece a quienes financiaron el proyecto o a sus participantes y a quienes contribuyeron a su éxito (y que no se encuentran en la lista de autores).

Anexos

Son muy útiles para hacer más ágil la lectura del texto principal, sin que se abrume al lector con detalles de cálculo, descripción paso a paso de metodologías, información detallada pero complementaria a la que se incluyó en el cuerpo principal del texto, etc. Esta información detallada generalmente no se incluye en las publicaciones científicas, aunque cada vez con más frecuencia es posible anexar información adicional al propio texto del artículo, sobre todo en las versiones electrónicas de las revistas científicas. Los anexos incluidos en tesis e informes, son muy útiles para estudiantes que inician un proyecto de investigación, ya que se presentan los detalles de los procesos y procedimientos experimentales.

No es trivial establecer el límite sobre el material que debe ir en el cuerpo principal del texto o en un anexo. La recomendación general es que el texto sea lo más breve posible, que incluya la información procesada y digerida y que en el anexo se ponga la información que sea necesaria para probar, con todo detalle, lo que se menciona en el cuerpo principal del texto.

Comentarios sobre redacción, ortografía y puntuación

Si bien los aspectos de redacción, ortografía y puntuación están fuera del alcance de un libro como éste, es necesario al menos comentar brevemente sobre su importancia. Lamentablemente, son muy comunes las deficiencias en aspectos básicos de gramática, incluso para alumnos que están terminando el doctorado. En el caso de la ortografía, resulta inaceptable, sobre todo dadas las herramientas informáticas como correctores de ortografía a las que se tiene acceso.

En el caso de la redacción, se listan a continuación sugerencias útiles sobre lo que se debe y no se debe hacer al redactar, en particular un informe, tesis o manuscrito, resultado de un programa experimental:

a) Usar frases cortas, esto es, usar frecuentemente el punto y seguido.
b) No redactar en español con la sintaxis del inglés.
c) Establecer el tiempo y la persona que habla en el texto y ser fiel a ellos durante todo el documento. El impersonal ("se") y el pasado son particularmente convenientes.
d) Evitar el uso coloquial del lenguaje.

En el Apéndice (p. 168) se incluye un ejemplo de un artículo científico (publicado en español y en inglés en la revista *Agrociencia*) que permite ilustrar las partes de un informe (en particular si se trata de un manuscrito para una publicación científica).

Lecturas adicionales sugeridas

Barrass, Robert (1978), *Scientists Must Write. A Guide To Better Writing for Scientists, Engineers and Students*, Londres, Chapman & Hall, 1978, 176 pp. Texto particularmente informativo y útil que reconoce el hecho básico y urgente de que, en general, los estudiantes escriben mal. Escrito por un investigador, no por un experto en letras, que en 14 breves capítulos analiza el tema, brinda ejemplos y da recomendaciones concretas para escribir mejor informes, tesis, artículos, etcétera.

Booth, Wayne C.; Colomb, G. Gregory; Williams, Joseph M., *The Craft of Research*, 3ª ed., Chicago y Londres, University of Chicago Press, 2008. Libro ampliamente recomendable que se usa en varios cursos en Estados Unidos sobre escritura de documentos sobre informes de investigación.

Davis, Martha, *Scientific Papers and Presentations*, San Diego, Academic Press, San Diego, 1997, 295 pp. Probablemente el texto más conocido y leído sobre la preparación, redacción y presentación de trabajos científicos, en particular artículos para revistas especializadas. Incluye varios apéndices con ejemplos específicos sobre los diferentes tópicos.

Millán, José Antonio, *Perdón imposible. Guía para una puntuación más rica y consciente*, México, Océano, 2005, 172 pp. En la contraportada de este muy disfrutable libro se indica: "En general usamos una puntuación deficiente, y no es extraño: puntuar exige el esfuerzo de situarse al tiempo en el lugar del que escribe y del que va a leer."

O'Connor, Maeve, *Writing Successfully in Science*, Londres, Chapmann & Hallm, 1991, 229 pp. La autora de esta obra reconoce que "muchos científicos, incluso los de más éxito, preferirían continuar su siguiente trabajo en el laboratorio más que sentarse a escribir el informe del último que hicieron". En particular, proporciona consejos para elaborar un artículo científico y su seguimiento en el proceso de publicación. Es también útil para aquellos cuya lengua materna no sea el inglés, ayudando a evitar los errores más comunes de gramática en inglés.

Stapleton, Paul, *Writing Research Papers. An Easy Guide for Non-Native-English Speakers (Australian)*, Canberra, Centre for International Agricultural Research, 1987, 47 pp., <www.aciar.gov.au/web.nsf/doc/ACIA-6J67WV>. Folleto conciso y útil que describe el proceso de escritura de artículos científicos en inglés (hoy por hoy, el lenguaje universal de la ciencia) para aquellos cuya lengua materna no sea el inglés. Fue inicialmente escrito para estudiantes y científicos de Indonesia.

11. LA COMUNICACIÓN (ESCRITA)

El informe final y la publicación

Ver y oír para creer
Anónimo

Presentaciones orales

El trabajo de investigación también suele tener que presentarse de forma oral. El ejercicio más común se da en las presentaciones en congresos especializados, en donde por lo general se presentan los avances del trabajo de investigación. También es usual hacer presentaciones en seminarios internos del grupo de investigación o como invitado en conferencias.

Los elementos para hacer más efectiva una ponencia son:

Tiempo. Ajustarse estrictamente al tiempo disponible. Generalmente, una ponencia en un congreso tiene un límite de 15 minutos; una presentación de avances dura entre 30 y 40 minutos, y una conferencia puede tener una duración de 45 a 60 minutos.

Audiencia. En la elaboración de una presentación oral es importante identificar el tipo de público al que se va a dirigir. Por ejemplo, a un congreso asisten los interesados en el área y en su mayoría son investigadores o estudiantes que están trabajando en los temas que se van a tratar. En un seminario de avances, la audiencia es el grupo de investigación que incluye el personal académico (investigadores y asistentes de investigación) y los estudiantes que trabajan en el grupo. En una conferencia, la audiencia puede ser más diversa, pero, según el tema, se puede tener una idea aproximada del tipo de auditorio. Cuando sea de divulgación es necesario considerar el tipo y nivel de escolaridad del público.

Introducción. Ante especialistas, la introducción debe ser muy breve, mientras que en una conferencia de divulgación, la introducción del tema es una parte importante de la ponencia, ya que debe pensarse en un nivel medio de conocimientos sobre el tema para enfocar adecuadamente la presentación.

Medios de presentación. Existen varias formas para hacer una presentación oral: acetatos, transparencias o diapositivas, rotafolios, proyector o "cañón", que actualmente es el más utilizado. Los "acetatos" tienen ventajas considerables, porque se pueden hacer anotaciones durante la exposición y las "transparencias" o diapositivas tienen ventajas en lo que se refiere a la calidad y resolución de las fotografías; sin embargo, cada vez es más difícil conseguir los proyectores para estas formas de proyección. Los avances tecnológicos en la fotografía digital así como en el manejo multimedia de la información y la disminución de los precios de las

computadoras personales y los equipos de proyección y multimedia han permitido que las presentaciones tipo *Power Point* sean la alternativa casi universal para realizar la comunicación oral de los trabajos.

Sugerencias generales. La eficiencia para hacer presentaciones se adquiere con la práctica de forma similar a las demás habilidades del trabajo de investigación experimental. En este libro sólo se mencionan algunas sugerencias generales que deberán considerarse para preparar una presentación oral concreta, clara y atractiva y algunas sugerencias a considerar durante la exposición oral.

Preparación

1. Las diapositivas NO son la ponencia. La presentación la hace el investigador o estudiante de forma oral utilizando como base las diapositivas, las cuales son el medio para ayudarle a exponer las ideas de forma más clara, atractiva y convincente para el público. Las diapositivas sólo deben ser notas, que sirven para que el presentador recuerde los puntos importantes para atraer la atención.
2. Ser creativo y cuidadoso en la preparación de la presentación. No se debe olvidar que la creatividad y el cuidado requieren inversión de tiempo.
3. El número de diapositivas debe seleccionarse cuidadosamente. Es muy común que el investigador o estudiante tenga más material que tiempo disponible para presentarlo. Por lo tanto, quien presenta debe transmitir lo más relevante del trabajo apoyándose en las diapositivas. Aunque el tiempo es variable, dependiendo del tema y tipo de presentación, debe considerarse que cada diapositiva requiere en promedio de dos minutos para ser presentada de forma clara y concisa. Esto significa que, por ejemplo, para una presentación de 15 minutos deberán incluirse entre siete y diez diapositivas, y para una conferencia de 45 minutos, el número de diapositivas no deberá exceder de veinte o veinticinco. Por lo tanto, hay que seleccionar el menor número posible de diapositivas considerando el mínimo de tiempo requerido para presentar cada una y no extralimitarse en el tiempo global de la presentación.
4. El investigador o estudiante deberá también seleccionar las ideas o conceptos más importantes que desea transmitir, posiblemente no excediendo de dos. Es frecuente que el estudiante inexperto (sobre todo si es un avance de su trabajo de tesis) trate de incluir la mayor cantidad de material posible (y por lo tanto muchas ideas y numerosas diapositivas). Esto debe evitarse, ya que el resultado será que el expositor no pueda transmitir ninguna idea o concepto completo y se pierda lo importante del trabajo. Esto es particularmente crítico en las presentaciones en congresos ya que el tiempo es limitado y controlado.
5. Evitar el uso exclusivo de mayúsculas, ya que son más difíciles de leer. Evitar diseños de diapositivas "recargadas", no usar colores agresivos a la vista (como el amarillo, naranja brillantes e intensos) como fondo. El uso de fondos oscuros (como negro y azul intenso) y letras en blanco o amarillo son muy convenientes salvo si se prevé que no se podrá oscurecer el auditorio de forma satisfactoria. En este último caso son mejores los fondos blancos.
6. Las diapositivas deben contener *la menor cantidad posible de texto*, ya que no deben ser hechas para leerse oralmente, salvo mínimas excepciones, cuando es necesario citar algo textualmente.
7. En general, la secuencia de la presentación sigue el formato de un informe final:
   a. título (incluir autores e instituciones),
   b. índice
   c. breve introducción o justificación,

d. objetivos,
e. metodologías, presentadas de forma muy esquemática,
f. los resultados más relevantes y significativos,
g. conclusiones (relacionadas con el objetivo y los resultados expuestos),
h. agradecimientos o reconocimientos.

8. Es importante marcar los cambios de un tema a otro en la presentación. Una forma es presentar las diferentes secciones insertando preguntas al principio de la diapositiva que contiene más información de esa sección, por ejemplo: "¿qué sabíamos previamente?", "¿qué hicimos?", "¿cómo lo hicimos?", etc. Esta forma puede ser mejor que incluir diapositivas con títulos como "introducción", "resultados", etc., que le restan continuidad a la presentación e incrementan innecesariamente el número de diapositivas.
9. Es mejor incluir una figura o gráfica en lugar de una tabla.
10. Al presentar gráficas o figuras, es importante indicar al auditorio lo que se está representando en cada eje. Los símbolos de las gráficas y los letreros que definen los ejes deben ser del mayor tamaño posible, para ser vistos por los que están más lejos de la pantalla o pizarrón de proyección, pero debe evitarse la distorsión de la imagen o la gráfica. En ocasiones, es útil incluir, como título de la gráfica, una frase corta que resuma el mensaje principal de la información presentada en la propia gráfica.
11. Las figuras y gráficas de una presentación deben prepararse específicamente para una presentación oral. Las gráficas que se incluyen en una tesis, reporte o artículo, que están diseñados para leerse, pueden no ser adecuadas para verse o explicarse en una presentación oral. Las gráficas para presentación oral se simplifican (o incluso se rehacen) para que sea más fácil y rápido transmitir la información que se presenta. No es recomendable incluir más de dos variables dependientes en una misma gráfica.
12. Al incluir fotografías o imágenes es recomendable importarlas desde el archivo original utilizando las herramientas "insertar desde archivo" o "pegado especial" como imagen (metarchivo mejorado). Esto permite manejar las imágenes dentro del texto de forma más amigable además de evitar tener una presentación de gran tamaño y difícil de manejar. Asímismo, se disminuye la memoria ocupada y abrir el archivo no implica más tiempo.
13. No abusar de los efectos de animación que se pueden lograr con *Power Point*. Utilizar estos efectos de forma excesiva no sólo distrae la atención de los puntos de fondo que se quieren transmitir en una presentación sino que además incrementa el riesgo de que la presentación no funcione adecuadamente al momento de la exposición y que el tiempo dedicado a cada diapositiva sea mayor al planeado.

Exposición

Conviene señalar algunas recomendaciones:

– Ensayar la presentación entre colegas, profesores o compañeros estudiantes. Invitar a alguien que no sea experto en el área: generalmente podrá ver cosas que los expertos no ven o dan por supuestas.
– Al momento de exponer, señalar los aspectos importantes de cada diapositiva. Las diapositivas no son "autoexplicables". Recordar que las diapositivas son notas para ayudar a exponer las ideas en forma más clara y requieren que el expositor las explique al público.
– Llevar algunas diapositivas extras, las cuales pueden ser útiles para aclarar o profundizar alguna idea o concepto del tema expuesto. Estas diapositivas se pueden utilizar en el tiempo asignado para preguntas y

respuestas, si ello es pertinente. Desde luego, no debe usarse el tiempo de preguntas para extender la exposición.
– Procurar llegar con suficiente tiempo de anticipación a la presentación para poder "probar" las diapositivas en la computadora asignada (llevar la personal, es mejor) y con el videoproyector que se va a utilizar. En muchas ocasiones ocurre que lo que se observa en la PC en que se preparó la presentación y su proyección en el equipo propio, no corresponde con lo que se ve con otros equipos (desconfiguración de la presentación por cambios de equipo y diferencias en las versiones del "software"). Hay "pequeñas" diferencias entre las versiones de los programas más usados para presentaciones que han sido instaladas en otras computadoras y que pueden arruinar la presentación. Esto es particularmente cierto en el caso de fotografías de alta resolución o videos demostrativos.

En cualquier caso, llevar un archivo de respaldo de la presentación. Llevar consigo el respaldo (previamente probado) en más de una forma: por ejemplo, en una memoria USB y en un CD.

Si se preparó la presentación en un equipo tipo *Macintosh*, no asumir que la presentación se verá igual en un equipo PC. Antes de la presentación, puede que se tengan que hacer las correcciones en el equipo que se va a utilizar para la presentación y la proyección. La gran mayoría de las "desconfiguraciones" se observan en los efectos de animación, gráficas, tipografía (fuente) e imágenes.

Es común que los estudiantes que por primera vez presentan un trabajo oral se encuentren nerviosos. Esto es natural y sano, ya que es indicativo de que se está en condiciones de darle importancia, y en consecuencia interés por mejorar. Hay que respirar profundamente antes de empezar la presentación y estar conscientes de que el expositor tiene la ventaja enorme de que casi nadie en el auditorio sabe más del tema en particular, que el que lo está presentando.

En la figura 12.1 (p. 119) se incluye un conjunto de diapositivas para una presentación oral con algunos de los aspectos sugeridos en este documento.

Carteles o pósteres

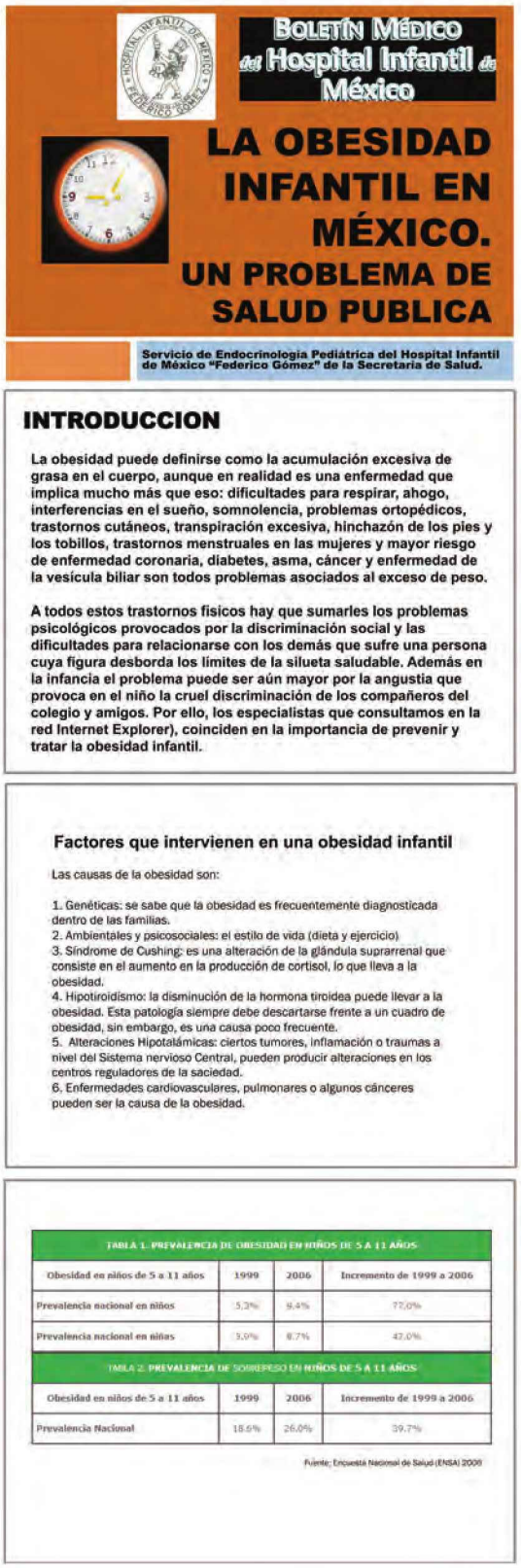
En casi todos los congresos actuales, las presentaciones orales son cada vez menos frecuentes, pudiendo llegar a limitarse a las conferencias plenarias invitadas. Los carteles son la forma más conveniente de albergar una gran cantidad de trabajos, que puedan ser vistos por los interesados.

La elaboración de un cartel requiere mucho más talento, labor de integración y un carácter formativo diferente que una presentación oral. Las amplias posibilidades de estos programas para preparar presentaciones hacen, con frecuencia, que los estudiantes cuiden más la forma que el fondo.

Recomendaciones y sugerencias para elaborar un cartel

Al igual que con las diapositivas en una presentación oral, el cartel NO es la presentación, sino un medio para hacer la presentación por el expositor. En consecuencia, son aplicables un buen número de las consideraciones hechas para una presentación oral. En la figura 12.2 (p. 120) se ilustran algunos de los aspectos más relevantes en la elaboración y en el formato de un cartel. A continuación se mencionan las más importantes y que son particulares para el caso de los carteles:

Deficiente



Mejor

Figura 12.1 Ejemplos de presentación de diapositivas.

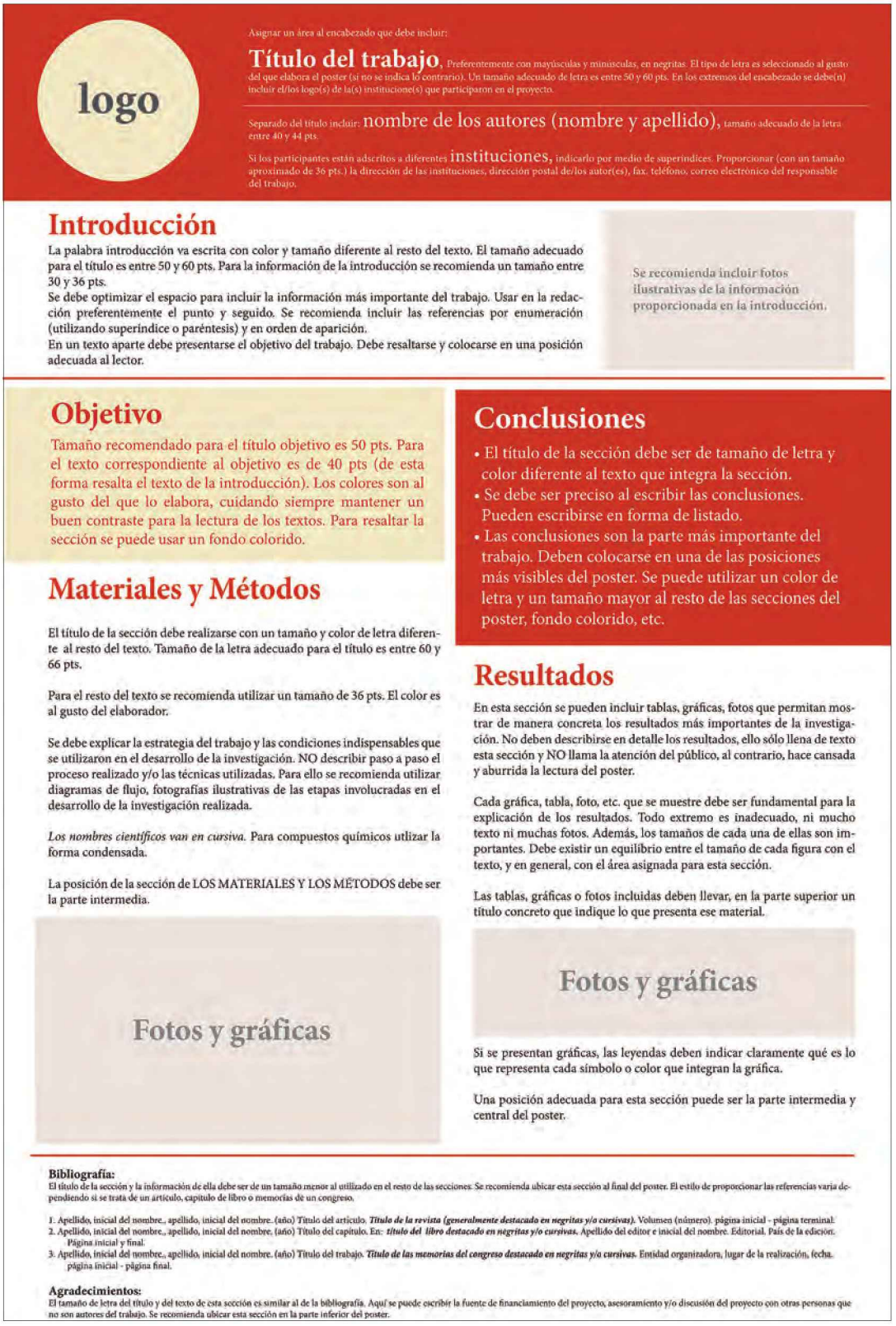
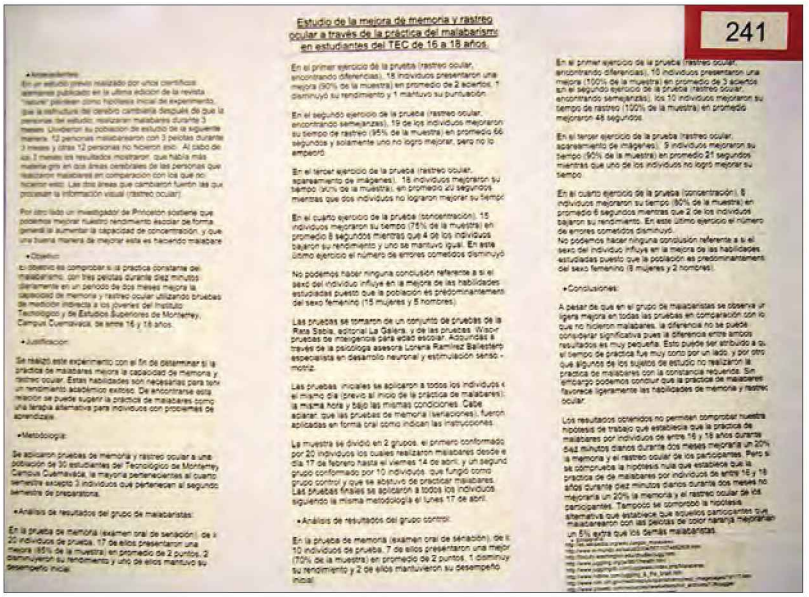


Figura 12.2 Recomendaciones para la elaboración de un cartel. **Nota importante:** En esta figura se incluyen las sugerencias más importantes para elaborar un cartel pero no es un ejemplo de un buen cartel (por ejemplo, tiene demasiado texto). Véanse ejemplos de carteles bien y mal hechos en las figuras 12.3 a 12.5.

– El texto debe reducirse al mínimo posible. Un cartel no debe diseñarse para leerse, sino para ser explicado por el expositor. Las ideas deben ser presentadas de una forma esquemática, que le sirvan para explicar los principales hallazgos del trabajo de investigación. El uso de los denominados "balazos", frases cortas precedidas por una viñeta, que contenga las principales ideas a transmitir, es particularmente útil.
– Se debe diseñar en función de las medidas, especificaciones y forma de colocación que establecen los organizadores del evento en donde se presentará. En general, se fijan ya sea con cinta adhesiva de dos caras o bien con tiras de *velcro*. Es conveniente llevar los elementos para instalar el cartel y no confiar en que los organizadores los proveerán.
– El tamaño de las letras debe ser tal que el título del trabajo se pueda leer desde aproximadamente tres metros de distancia (entre 50 y 70 pts) y el resto del contenido pueda ser leído fácilmente desde una distancia de uno a dos metros (de 24 a 36 pts). Tratar de usar un solo tipo de letra o fuente (como Helvética, Arial, Times, Myriad, por ejemplo) que tenga variantes (*roman* o normal, *bold* o negrita, *italic* o cursiva) con las que pueda "jugar". Se podrá dividir y resaltar la información usando diferentes tamaños y/o variantes de la fuente; de esta forma se integrará visualmente la información, brindándole mayor claridad y orden al cartel.
– Incluir a la altura de la vista los aspectos más relevantes del trabajo, como conclusiones y/o los principales hallazgos. Si un interesado en el trabajo tiene que agacharse para leer las conclusiones, seguramente no lo hará o no las tomará muy en serio.
– Debe ser atractivo para el público al que está destinado, pero es el fondo lo más importante. La forma o diseño debe contribuir a resaltar las contribuciones principales del trabajo y no a diluirlas por exceso de "adornos" o "efectos especiales" (como es el caso del uso de diferentes tipografías). Es útil incluir fotos atractivas y de buena calidad relacionadas con el tema del trabajo. Se recomienda justificar la información, esto es, tratar que las cajas de texto estén alineadas con las imágenes, títulos, etc., con el fin de darle mejor estructura visual y claridad.
– Pueden armarse con elementos construidos en cartulinas por separado (con marcos y fondos atractivos) o bien se pueden diseñar usando diversos programas disponibles. Esto último tiene la ventaja de que se pueden hacer "pruebas" de "borradores", proyectando el cartel a las medidas reales y sin necesidad de imprimirlo. Una ventaja adicional incluye la posibilidad de hacer una "miniatura" del cartel, la cual puede usarse para distribuir entre los posibles interesados.
– Hay que estar preparado para hacer presentaciones rápidas del póster y en varias ocasiones. En un congreso, el cartel estará expuesto entre un número casi siempre muy grande de otros carteles. Los posibles interesados cuentan con poco tiempo para verlo.
– Al igual que en el caso de las presentaciones orales, es muy conveniente hacer un borrador del cartel que pueda ser presentado en un ensayo ante el grupo de investigación o colegas investigadores o estudiantes y pueda ser criticado y mejorado.

A continuación se presentan algunos ejemplos de carteles presentados en eventos reales, contrastando aquellos bien hechos con algunos particularmente deficientes.

Cartel deficiente



Cartel bien hecho

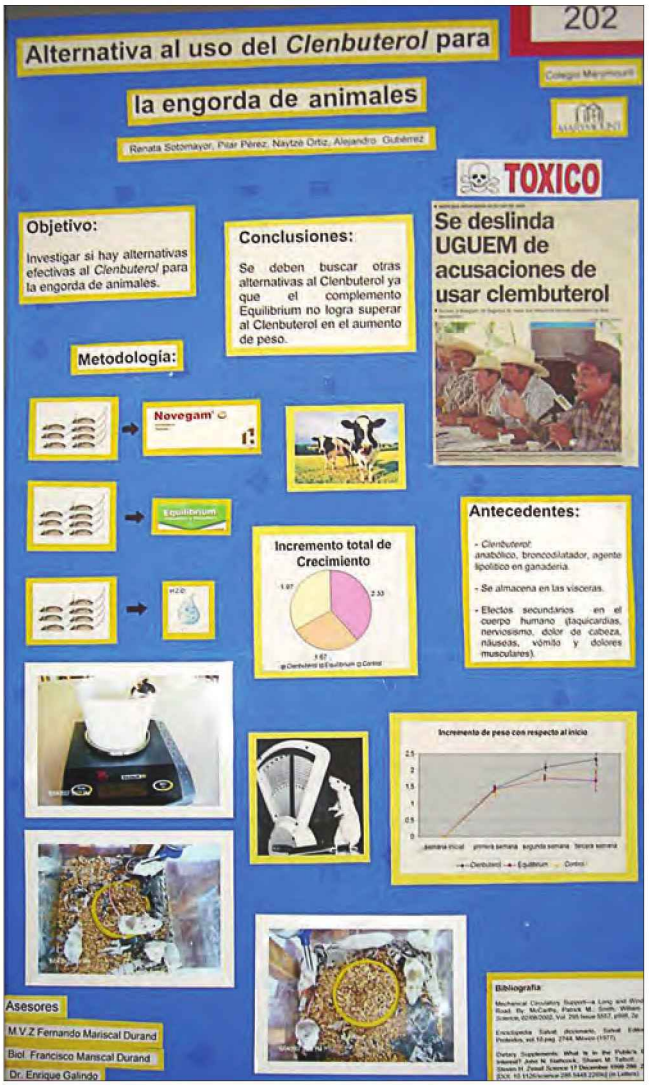
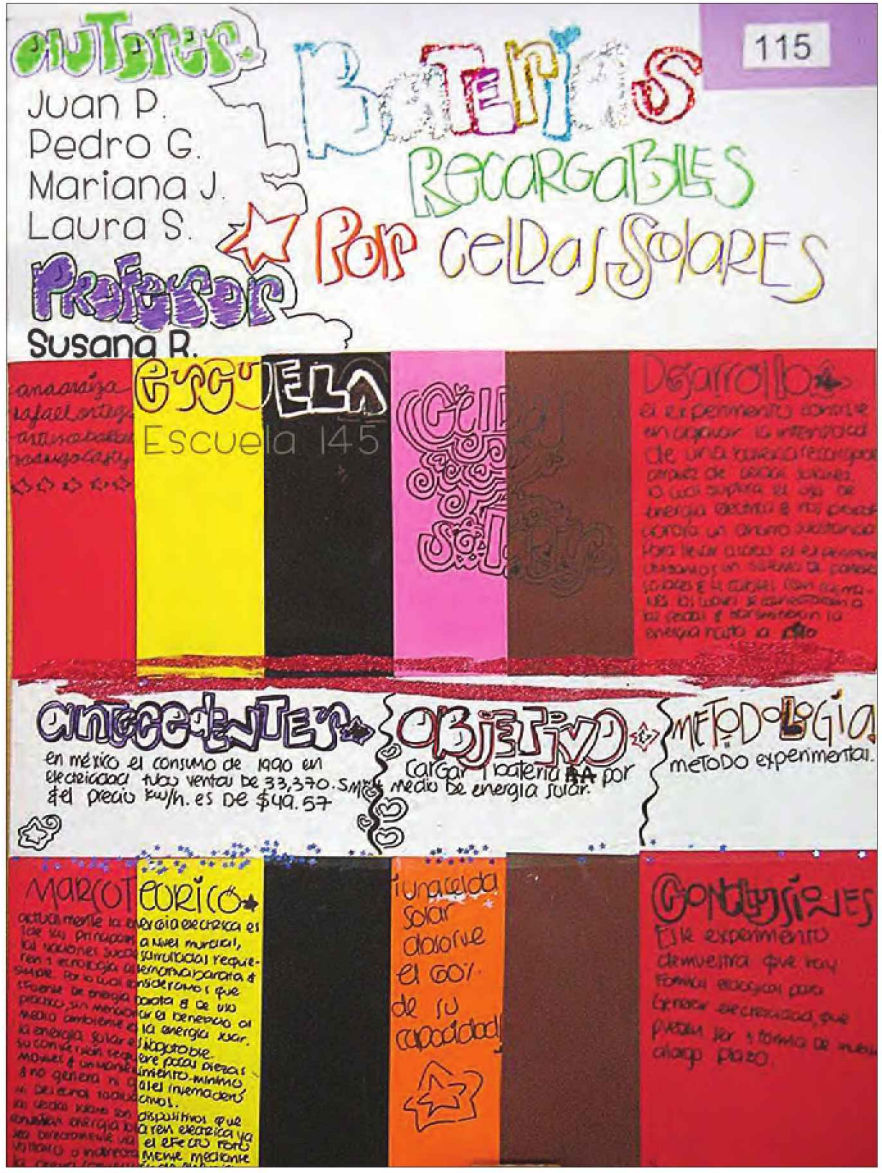


Figura 12.3

Cartel deficiente



Cartel bien hecho

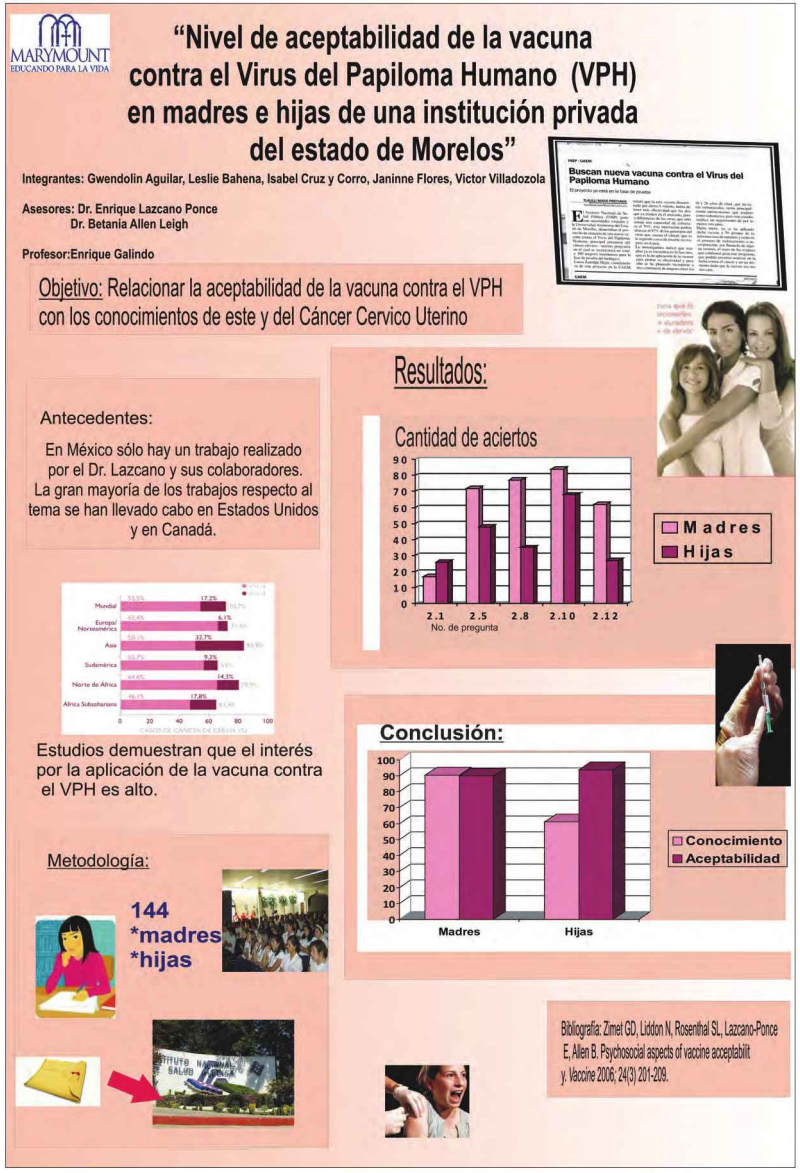
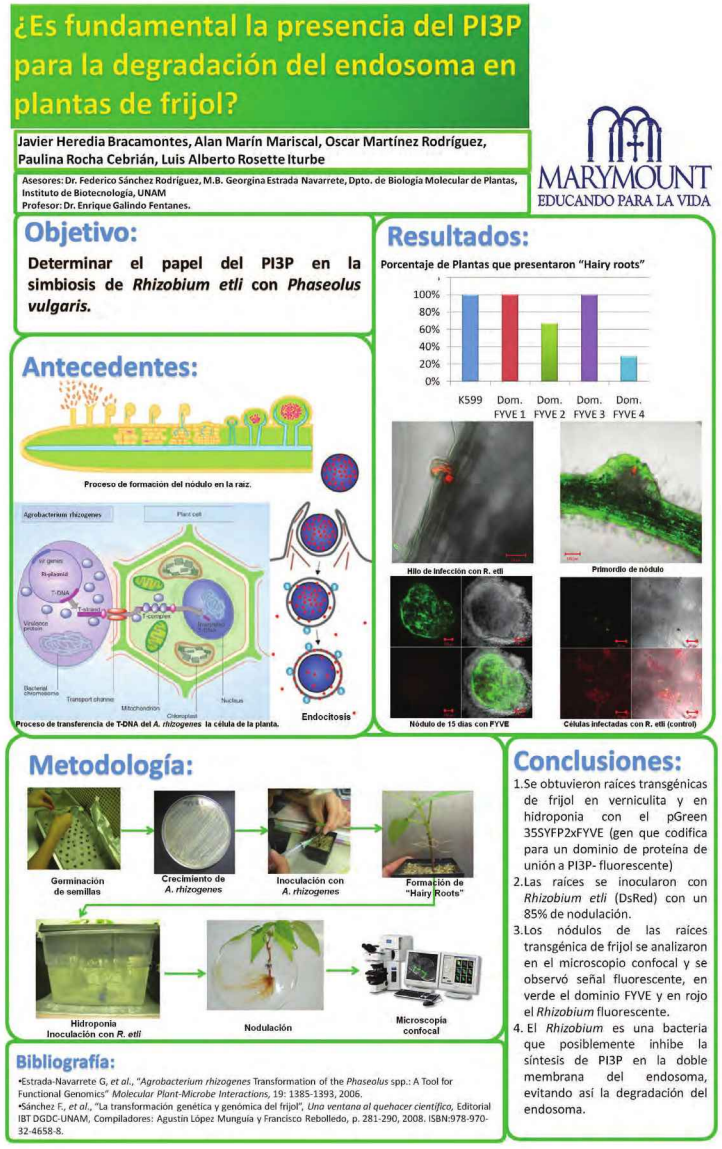


Figura 12.4

Figura 12.5

Cartel deficiente

Cartel bien hecho



Lecturas adicionales sugeridas

Bly, Robert W., *Give Memorable Presentations. Chemical Enginering Progress*, enero, 2003, pp. 84-87. Artículo que da consejos prácticos sobre cómo presentar oralmente un trabajo.

Boot, Wayne, C.; Colomb, Gregory G.; Williams, Joseph M., *The Craft of Research*, 3ª ed., Chicago, Londres, University of Chicago Press, 2008. Al final del libro, en la p. 290 de la sección "Recursos", se enlistan referencias en las que se proporcionan sugerencias muy útiles para elaborar pósteres, incluyendo algunas propuestas base o formatos preestablecidos, como los de la Universidad de Stanford <http://stanford.edu/dept/VAS/posters/poster_template.html>.

Davis, Martha, *Scientific Papers and Presentations*, San Diego, Academic Press, 1997, 295 pp. Dedica siete capítulos (13-19) a los aspectos de comunicación de trabajos científicos, incluyendo las presentaciones audiovisuales y los carteles, así como el "lenguaje corporal" y la comunicación en reuniones o comités.

Willis, Jackie, *Data Analysis and Presentation Skills. An Introduction for the Life and Medical Sciences*, Chichester, Inglaterra, John Wiley & Sons, 2004, 183 pp. El capítulo 6 da una detallada guía y algunos ejemplos de presentaciones audiovisuales y pósteres, usando *Power Point*.

<www.onr.navy.mil/about/speaking_tips/handouts.asp> proporciona consejos y muchos ejemplos para mejorar la calidad de las presentaciones de trabajos científicos.

13. LA HONESTIDAD

Las normas éticas de la ciencia

Una cosa es morirse de dolor...
y otra cosa morirse de vergüenza

Fragmento de poema de Mario Benedetti

La ciencia es una empresa colectiva que depende en buena medida de la confianza y buena fe de los investigadores. El fruto de la ciencia es el conocimiento y busca siempre la descripción de la realidad. Por eso resulta fundamental considerar los aspectos éticos de la ciencia. Hay varias formas en las que un científico puede ser deshonesto. Con el fin de que el investigador nuevo no cometa violaciones a la ética, se revisan las principales de ellas brevemente aquí.

El fraude en ciencia es relativamente fácil de cometer y no siempre es fácil de detectar. Sin embargo, con los controles de calidad de la ciencia, tarde o temprano los fraudes se detectan. El lector se preguntará: ¿no hay leyes claras y penalizaciones para quienes las violan, en el trabajo científico? La respuesta es no. Y la razón no es la negligencia, ni la falta de abogados, ni las posibles deficiencias de la legislación (y de los legisladores). La razón es que el conocimiento científico nuevo forma la base del diseño de nuevas estrategias conceptuales y experimentales para futuros proyectos. La información fraudulenta o errónea, generalmente resultará descubierta en trabajos posteriores en el área científica correspondiente.

Otra razón es que sería tremendamente complicado. Por ejemplo, tendría que haber una especie de *Ministerio Público de la Ciencia* que se dedicara a recibir y procesar las posibles demandas (¿puestas por quién?) de los fraudes científicos. También tendría que existir una *Procuraduría* (o *Fiscalía*) *de la Honestidad Científica* que persiguiera de oficio a los científicos fraudulentos. Ante tales instituciones, también tendrían que existir los *Abogados Científicos*, que se tendrían que encargar de defender (aunque fueran culpables) a los científicos deshonestos. Y, por supuesto, tendría que existir la *Suprema Corte Científica*, que resolvería los casos. En vista de que quienes trabajaran en tales instituciones deberían ser científicos (que son los que saben del tema), una buena parte de los científicos ya no serían científicos. El mundo científico ha hecho las cosas más fáciles: se confía en que los colegas son honestos. Si esto no se diera, habría muy poco avance del conocimiento, ya que la mitad de los científicos estarían reproduciendo lo que hace la otra mitad, para estar seguros de que no hay trampas. Es por ello muy importante que los científicos sean honestos y la honestidad, en el medio científico se autorregula sin reglas escritas. Apenas se detecta un fraude o una falta a la ética de algún científico, éste es segregado y desprestigiado por sus colegas. Ése es un castigo muy duro para un científico, ya que justamente lo que busca un científico es credibilidad (que le da el impacto y solidez a sus trabajos), lo que con el tiempo le da el prestigio a un hombre de ciencia.

Algunos aspectos que todo investigador o estudiante debe considerar en cuanto a ética en ciencia son:

No engañar

El investigador o estudiante debe asegurarse, en primer término, de que no se engaña a sí mismo, lo que resulta muy fácil. Por esto, los experimentos deben estar diseñados para que la evidencia experimental pueda probar que los hechos son incluso lo contrario a lo que se esperaba. Segundo: no engañar a los demás. Se puede engañar incluso sin darse cuenta. Por ejemplo, cuando hay errores (no detectados y desde luego no deliberados) en algunos datos y éstos se publican. Entonces, además de engañarse a sí mismo, está engañando a los demás. Desde luego, si el engaño es deliberado, estamos hablando de fraude.

No publicar datos incompletos y de los que no se esté completamente seguro

Se considera una falta a la ética si se publican datos incompletos y de cuyos experimentos no se tiene evidencia sólida de que son reproducibles. Es por ello que el diseño experimental debe incluir un número suficiente de réplicas que permitan conocer su variabilidad y, en consecuencia, su significancia estadística. Mientras más revolucionario es lo que se trata de probar, mayores y más contundentes deben ser las evidencias que lo soporten. Como bien decía Carl Sagan: "los descubrimientos extraordinarios requieren también de pruebas extraordinarias". Si bien estos aspectos son evaluados por los árbitros de manuscritos que se envían para publicación, hay que considerar que el principal y primer árbitro de cualquier trabajo de investigación debe ser el propio investigador o estudiante. Es aceptable, sin embargo, presentar datos preliminares en seminarios internos ante los colegas inmediatos y en congresos científicos en forma de presentaciones orales o carteles, eventos que tienen justamente la utilidad de someter el trabajo a la crítica y retroalimentación por los colegas.

No fabricar datos

Fabricar datos quiere decir que éstos no fueron obtenidos por medio de la experimentación o derivados de algún modelo matemático que tenga fundamentos sólidos. Esto es, que se inventaron y hacen parecer como si hubieran sido obtenidos genuinamente. Resulta difícil entender las razones por las que un investigador comete esta grave falta a la ética. El investigador, al ser eventualmente descubierto, obtiene justo lo contrario de lo que persigue con las publicaciones: desprestigio.

No "arreglar" datos

Es también una falta a la ética cuando un investigador, a pesar de haber obtenido los datos en forma genuina y válida, los "arregla" de tal modo que le ayudan a obtener la conclusión que quiere o bien apoyan la hipótesis preferida del investigador. Esto incluye el hecho de omitir datos "inconvenientes". Es frustante para un investigador, después de varios años de trabajo, obtener datos y que una fracción de ellos "se salga" de la tendencia general de los demás, por lo que no son muy "convenientes" de incluir ya que parece que lo que se está tratando de probar no resulta del todo creíble. Los investigadores novatos pueden tomar el camino fácil: ignorarlos. Sin embargo, la gran mayoría asume las consecuencias y repite exhaustivamente los experimentos hasta estar seguros de que hay razones válidas para ignorarlos. Por ejemplo, que hubo un fallo técnico en algún aparato o

que algún reactivo se incluyó de forma equivocada o que la sustancia estaba caducada. También puede darse el caso de que tales datos "inconvenientes" sean reproducibles y representen un aspecto novedoso del sistema, lo que a veces puede llevar a descubrimientos importantes. Otra opción es simplemente que por el momento no se pueden explicar (y así tendría que manifestarse). Los datos también se pueden "arreglar" sin omitir ninguno, de tal forma que los efectos que se trata de mostrar coincidan con lo que el investigador —o peor aún, quien lo financió— quiere demostrar.

No omitir datos

El hecho de no incluir en un trabajo de investigación aquellos datos que contradicen o hacen dudar sobre el conjunto principal de evidencias es una falta a la ética. El investigador debe presentar los datos para mostrar rigurosamente el efecto o fenómeno relevante de su investigación y es una obligación moral hacerlo de tal forma que sean claros también los "inconvenientes", incluso los que van en contra de lo que se quiere probar.

También lo es publicar un trabajo en el que, teniendo la información al respecto, sólo se presenten las ventajas —y no las desventajas— de un determinado fenómeno o proceso. Omitir datos por razones políticas, económicas o de conveniencia personal o de grupo es igualmente inaceptable.

Errores

Si no son deliberados, son aceptables, siempre y cuando se reconozcan y aclaren. Si se descubre un error en un trabajo publicado, se debe hacer del conocimiento de la comunidad científica. En las revistas científicas se encuentran ocasionalmente cartas al editor, o bien artículos publicados por un investigador (o grupo de investigación) en los que se retractan de un artículo previo y lo "retiran" oficialmente, o bien presentan evidencias que refutan lo establecido en un artículo previo de ellos mismos. La comunidad científica acepta estos hechos e incluso valora al investigador que reconoce y aclara un error. Cuando estos casos trascienden a la opinión pública se hace parecer que se hizo trampa, cuando la trampa hubiera sido no reconocer el error. En el Apéndice (p. 179) se ilustra un caso de esta naturaleza de un destacado científico mexicano.

Falta de cuidado

Un investigador o estudiante que no analice exhaustivamente los datos que obtuvo, o que haga un análisis superficial, o que presente las evidencias hechas sin cuidado, está cometiendo una falta de respeto a su comunidad. Un trabajo descuidado consumirá innecesariamente el tiempo valioso de otros científicos cuando son árbitros de los trabajos enviados a publicación o cuando son revisores de una tesis.

Cantidad y calidad

Siempre se deberá privilegiar la calidad sobre la cantidad. En vista de que la carrera y el prestigio de un investigador se miden fundamentalmente por los trabajos que publica en revistas serias y arbitradas, puede

existir la tentación de que un investigador privilegie la cantidad sobre la calidad. Un investigador o estudiante debería tener como norma el publicar sus trabajos en las revistas de mayor impacto en su área, que normalmente son las más exigentes.

Conflicto de intereses

Se define cuando se tienen que tomar decisiones sobre algún trabajo o persona y quien lo evalúa no puede ser absolutamente objetivo en su juicio. Esto puede ocurrir, por ejemplo, cuando el árbitro que va a juzgar la calidad de un manuscrito que informa de los hallazgos de investigación de un grupo, o la de una propuesta de investigación para obtener financiación, es un competidor del grupo en cuestión por lo cual podría bloquear la publicación o la obtención de financiación, además de tener acceso a información confidencial.

Otras razones podrían obedecer a que, por ejemplo, el árbitro es pariente, amigo o colega cercano del investigador o estudiante en cuestión, o bien tiene un problema personal, legal o de cualquier otro tipo, con ese investigador o estudiante. También se considera conflicto de intereses cuando el investigador o estudiante tiene algún interés comercial en el proyecto, esto es, por ejemplo, que sea socio de la empresa que comercializaría el producto que se obtendría como resultado de la investigación.

En el caso particular del manejo de los manuscritos de eventuales publicaciones científicas, hay varios casos en los que se puede caer en conflicto de intereses. Cuando un investigador recibe un manuscrito para evaluación y cae en los casos descritos anteriormente, debe declinar la evaluación del trabajo sin leerlo. Los árbitros tienen información privilegiada ya que reciben material (generalmente de su misma área de trabajo) que todavía no es del conocimiento público. En consecuencia, un árbitro no debe usar (ni para bien ni para mal) la información confidencial que recibe con el manuscrito. Esto es muy delicado ya que un árbitro puede recibir un manuscrito que se le adelante al trabajo que él esta haciendo en su laboratorio. Si éste es el caso, el árbitro debe poner en conocimiento del editor la situación y devolver de inmediato el manuscrito en cuestión. Tampoco es aceptable que un investigador, sobre todo aquel que trabaja para alguna empresa comercial, sea árbitro de trabajos de otros investigadores que trabajan para alguna empresa que es competidora de la primera. En general, en la comunidad científica, para minimizar los posibles conflictos de intereses, se recurre a un gran número de evaluadores a nivel internacional, y es por eso que las revistas de calidad tienen un cuerpo de evaluadores suficientemente grande que hace que estos conflictos se minimicen o se puedan corregir rápidamente. Se considera fraude el no manifestar que se tiene un conflicto de intereses.

Difusión de la información

El científico tiene la obligación (moral) de divulgar lo más extensivamente posible el conocimiento que haya generado; sin embargo, tiene también el derecho a la privacidad sobre tal información durante un periodo relativamente corto y que usualmente se aprovecha para difundirla en forma limitada, por ejemplo en congresos o reuniones científicas. Esto también sirve para discutirla y someterla a la crítica de los colegas cercanos. Ese periodo de privacidad también suele usarse para hacer —en su caso—, la solicitud de patente sobre los aspectos potencialmente utilitarios de la información que ha generado. Se considera una falta a la ética el no divulgar el conocimiento por razones políticas, comerciales o de conveniencia personal o grupal.

Plagio

Consiste en divulgar como propia información de otros sin su conocimiento y consentimiento. Una forma de plagio es también el autoplagio, es decir, publicar más de una vez los mismos datos, o bien usar el texto del propio autor en forma idéntica en más de una publicación. Hay otra forma de plagio, que lamentablemente es cada vez más común, sobre todo en trabajos preliminares de estudiantes: dadas las facilidades que ofrecen los procesadores de palabras y la vasta información disponible a través de Internet, es muy fácil hacer "copiado y pegado" y tratar de hacer pensar que el texto es propio. Es perfectamente posible y válido citar incluso párrafos completos de algún otro autor o fuente; sin embargo, debe especificarse claramente la fuente y hacerlo evidente y claro en el texto. Lo importante es mencionar que el plagio, tarde o temprano, se descubre. Así que, los plagiadores pueden estar seguros de que su "éxito" siempre es efímero.

Créditos

"Honor a quien honor merece" reza el dicho popular, el cual es particularmente cierto en el trabajo científico. Una de las principales recompensas del trabajo científico es, además del placer del descubrimiento, el reconocimiento de la sociedad en su conjunto de que cierto conocimiento fue generado por primera vez por un determinado autor o autores. Hay que considerar que el reconocimiento generalmente se les da a quienes publicaron primero el trabajo y no necesariamente a quienes genuinamente lo hicieron antes, pero no lo publicaron. Pero, ¿cómo se decide quiénes son los legítimos autores? Eso generalmente se hace a través de la autoría de las publicaciones. El autor "principal" de una publicación es el que se considera que tiene el mayor mérito y el que aportó la idea principal y la mayor parte de los resultados (pero sobre todo de su interpretación y análisis). No necesariamente el autor "principal" es el que más experimentos hizo, sino el que hizo, procesó, analizó los experimentos críticos y generalmente integró al menos la primera versión del manuscrito. Esto generalmente es el caso con los estudiantes de posgrado, particularmente los de doctorado. Es conflictiva la situación cuando más de una persona contribuyó en forma relevante al trabajo y algunas revistas aceptan, por ejemplo, que se ponga un asterisco a varios autores y una nota que diga que "todos ellos contribuyeron de forma igual y sustantiva" al trabajo en cuestión. El autor "principal" casi siempre es el primero de la lista de autores, aunque la costumbre varia entre diferentes disciplinas científicas.

El otro autor importante en una publicación es generalmente el profesor o investigador responsable del laboratorio y que con frecuencia es el director de la tesis de posgrado o del proyecto de un investigador asociado que generó los datos incluidos en el manuscrito. Por lo general, el profesor aporta el marco conceptual de las preguntas del proyecto —al menos las iniciales— y va dando rumbo al trabajo a medida que se obtienen nuevos resultados. El profesor también es responsable de proveer las facilidades experimentales (consiguiendo financiamiento a través de proyectos presentados a agencias financiadoras) para que se desarrolle un proyecto y de ser líder de una determinada línea de investigación. Desde luego, es responsable de la calidad final del trabajo que se generó y es (o debiera ser) el árbitro más estricto de su propio trabajo. El profesor es generalmente el "autor responsable", esto es, el que asume la responsabilidad principal respecto al contenido de la publicación y es quien tiene que encargarse del envío del trabajo, en su caso de responder y argumentar al editor con base en las críticas y comentarios de los árbitros y al que se le debe escribir para cualquier aspecto relacionado con el trabajo (solicitudes de sobretiros, posibles críticas o felicitaciones de otros autores, etc.). Es usual que, en este caso, sea el último de la lista de autores, aunque esto varía entre las diferentes disciplinas.

Dada la complejidad y multidisciplinariedad del trabajo científico actual, es casi siempre necesario que en una publicación participe un número relativamente grande de autores. Sin embargo, la regla general es que sólo deben ser coautores aquellas personas que tuvieron una contribución significativa, aunque podría ser limitada en el tiempo y participación, pero que finalmente resultó crítica para el trabajo.

Si la contribución fue sólo de carácter meramente técnico o administrativo (pero aún así importante), el crédito se debe dar en la sección de "Reconocimientos" o "Agradecimientos", la cual generalmente aparece al final del artículo. Una publicación jamás debe incluir autores "honorarios", esto es, que no hayan participado en forma directa e importante en el trabajo, pero que, por ejemplo, sean el jefe inmediato del investigador, el director de la institución donde trabaja, o un familiar o amigo que no participó en el proyecto o sólo financiadores.

Todos los autores son responsables de todo el contenido del artículo, esto es, de su veracidad y solidez. Es por ello particularmente grave incluir a un autor sin su pleno consentimiento. Sólo se debe incluir a un coautor, una vez que esté de acuerdo con la versión final del manuscrito que se enviará a la revista. El autor responsable debe mantener informados al resto de los autores, respecto a posibles cambios que se hagan al manuscrito antes de su publicación final.

Es también incorrecto mencionar en "Agradecimientos", y no como coautor, a quien hizo un aporte relevante (y viceversa). En una publicación es igualmente importante dar también el crédito a los trabajos previos que han sido hechos por otros investigadores. Una buena y exhaustiva revisión de la literatura es la mejor forma de no omitir ningún trabajo previo que tenga que ver y que sea relevante para la investigación en cuestión. Se considera fraude no citar (o citar falsamente) trabajos previos que hayan aparecido en la literatura científica formal.

La credibilidad de los científicos

Los científicos en general gozan de una alta credibilidad y respeto en la sociedad. El estereotipo del científico con frecuencia se asocia con el hecho de que es poseedor de la verdad absoluta y que tiene respuestas casi para cualquier problema que se le ponga enfrente. Si bien los científicos tienen herramientas sistemáticas y muy efectivas para perseguir la verdad, desde luego no son infalibles ni lo pueden saber todo. En consecuencia, otro aspecto ético importante es que los científicos no deben abusar de su alta credibilidad.

Lecturas adicionales sugeridas

Aluja, Martín; Birke, Andrea, *El papel de la ética en la investigación científica y la educación superior*, México, Academia Mexicana de Ciencias-Fondo de Cultura Económica, 2004, 366 pp. Este libro es el resultado de un simposio organizado por la Academia Mexicana de Ciencias en 2003 y en donde varios autores presentan, como se dice al inicio del libro, "el estado del arte de la integridad científica y el papel que juega la ética en la investigación científica". Consta de 14 capítulos, siendo algunos de ellos particularmente interesantes y recomendables, como el de H. Aréchiga ("Los aspectos éticos de la ciencia moderna"), el de A. Castillo-Méndez y L. Garibay-Pardo ("Ética en la investigación y educación superior: Perspectiva de una estudiante de licenciatura") y el de C. Montaña ("El papel del profesor y director de tesis en la transmisión de valores éticos").

Anónimo, "Ethical Guidelines to Publication of Chemical Research", *Biotechnology Progress*, vol. 19, núm. 1, 2003, pp. 9A-11A. Normas de la Sociedad Americana de Química sobre las cuestiones éticas, escritas en particular para los autores que pretenden publicar en revistas de esta sociedad profesional, así como para los editores de sus revistas y los árbitros de manuscritos.

Committee on Science, Engineering, and Public Policy, *On Being a Scientist, Responsible Conduct in Research*, Washington, National Academy Press, 1995. Disponible en <http://newton.nap.edu/openbook/0309051967/html/index>. Documento escrito por un comite *ad hoc* de la Academia de Ciencias de Estados Unidos, publicado originalmente en 1989 en la revista *Procc. Natl. Acad. Sci. USA* (89: 9053-9074); está dirigido principalmente a estudiantes que se inician en la investigación científica. Escrito en tres secciones breves ("I. La naturaleza de la investigación científica", "II. Los mecanismos sociales de la ciencia", y "III. El científico en la sociedad"). Es un documento que deberían leer todos los que se inician en el trabajo de investigación científica, ya que, como se dice en el Prefacio (y esto es válido no sólo en Estados Unidos): "La mayoría de los estadunidenses ven que una ciencia fuerte es esencial para un futuro exitoso. Sin embargo, ese generoso soporte social está basado en la premisa de que la ciencia será hecha honestamente y que los errores seran rutinariamente identificados y corregidos".

Davis, Martha, "Ethical and Legal Issues", *Scientific Papers and Presentations*, San Diego, Academic Press, 1997, cap. 12, pp. 113-197. Este capítulo trata los aspectos éticos y legales, en particular en las publicaciones y comunicaciones que los científicos y estudiantes hacen de su trabajo. Cubre los aspectos de derechos de autor (*copyright*) y muy sucintamente aquellos involucrados en las patentes.

Gálvez, Gerardo; De Régules, Sergio, "La letra escarlata. Fraude en la ciencia", *¿Cómo ves?*, núm. 83, 2005, pp. 10-14. Artículo de divulgación científica que ilustra, a través de relatos de fraudes famosos (como el del falso "eslabón perdido" reportado por un científico inglés, y la falsa "superconductividad" reportada por un científico alemán) cómo es que se autorregula el "control de calidad" de la ciencia.

Sacristán Rock, Emilio, "Sobre el fraude académico", *Academia*, Academia Mexicana de Ciencias, julio-agosto de 1996, pp. 33-38. Breve artículo que resume muy bien los aspectos involucrados sobre las normas éticas de la ciencia (no sólo el fraude) y que, como dice el autor, "la mayoría son sólo asuntos entre el investigador y su conciencia".

14. LA PROPIEDAD INTELECTUAL

Cómo apropiarse del conocimiento

El conocimiento es de quien lo genera...
y lo protege

Máxima de la propiedad intelectual

¿A quién le pertenece el conocimiento? En general, a la humanidad. La ciencia tiene dos misiones principales: perseguir el conocimiento y, después de pasar los controles de calidad, hacerlo del dominio público. Eso es lo que todos los investigadores hacen al publicar sus trabajos en revistas científicas. Sin embargo, el conocimiento —sobre todo el que podría ser de utilidad práctica— puede ser del patrimonio de sus creadores, y es posible hacerlo, en buena medida, sin menoscabo del ideal público de la ciencia.

El ser humano es el único ser capaz de crear obras derivadas del intelecto. Por ejemplo, la literatura, el arte, la ciencia, así como símbolos, nombres, imágenes, modelos, dibujos e invenciones. Todos estos productos de la mente pueden ser propiedad de sus creadores si se protegen adecuadamente. Para lograr esta protección de la propiedad intelectual, la sociedad ha ideado mecanismos que se agrupan en dos: a) derechos de autor, y b) propiedad industrial.

Derechos de autor

Esta figura está diseñada para proteger la propiedad de las obras literarias y artísticas. Es lo que en inglés se conoce como el *copyright*. Con esta figura también se pueden proteger los discos, programas de radio y televisión, así como los intérpretes, por ejemplo, cantantes. Una vez que se registra algún derecho de autor, quien quiera usar o reproducir la obra en cuestión debe obtener el permiso del dueño. Este permiso casi siempre se obtiene mediante un acuerdo económico.

Propiedad industrial

Tiene cuatro categorías principales:

a) las invenciones (patentes),
b) las marcas registradas,
c) los dibujos y modelos industriales,
d) la denominación de origen.

Las **marcas registradas** son los mecanismos más conocidos y usados para proteger la propiedad de una determinada obra o producto en el mercado. En la sociedad occidental estamos rodeados de marcas comerciales que nos saturan con publicidad. Este instrumento sólo protege —o más bien evita— que alguien más use un determinado nombre o diseño. No protege la forma en que el producto se hace. Por ejemplo, cualquier persona puede fabricar refresco de cola, pero sólo el dueño de la marca "Coca-Cola" puede usar ese nombre, o bien, lo puede usar, pero con permiso del dueño. Las marcas registradas no tienen caducidad. Desde luego, el tener la marca, por sí solo, no es un elemento de protección: la protección es efectiva cuando la marca viene acompañada de un producto conocido y de calidad o bien por una fuerte mercadotecnia. Es el prestigio y la antigüedad de una marca, la que la hace poderosa como elemento de propiedad intelectual.

Los **dibujos y modelos industriales** protegen máquinas que se describen con todo detalle en un dibujo o modelo.

La **denominación de origen** es un instrumento que se usa para proteger un determinado producto cuyas propiedades emerjan gracias a procesos y condiciones específicas de una zona geográfica en donde se pueda producir. Ejemplos de ello son el *champagne*, que es un vino blanco espumoso; el *cognac*, que es un destilado de uva, y el queso *camembert*, que se producen en diferentes regiones de Francia, o el tequila, producido en ciertas regiones de México. La protección consiste en que, por ejemplo, sólo se le puede llamar *tequila* a la bebida destilada del agave que se produce en una zona geográfica muy delimitada que incluye al estado de Jalisco y sus alrededores en México. El mismo tipo de agave se puede sembrar en otras regiones, pero a la bebida destilada obtenida de la fermentación de ese jugo de agave no se le puede llamar *tequila* (por ejemplo, se le llama mezcal).

Patentes

Son el mecanismo más usual y adecuado para proteger invenciones o desarrollos tecnológicos derivados de la investigación. Una patente es "el derecho exclusivo sobre una invención". Una invención se define como "producto o proceso que ofrece una nueva manera de hacer algo, o una nueva solución técnica a un problema". Las patentes otorgan protección a su titular por un tiempo limitado, de entre 15 y 20 años según las leyes de cada país. La protección que ofrece la patente es de carácter negativo, ya que establece que la invención no puede ser confeccionada, utilizada, distribuida o vendida comercialmente sin el consentimiento del titular.

El dueño de la patente tiene varios derechos, destacando:

a) decidir quién puede —o no puede— utilizarla,
b) otorgar permiso o "licencia" a terceros para usarla,
c) vender el derecho de la invención.

Las patentes pueden licenciarse mediante la firma de un convenio entre el o los propietarios y la parte interesada, en el que se especifican las condiciones y el precio o las regalías que deberán pagarse por el uso de la misma durante su vigencia. Las regalías pueden ser cantidades fijas o porcentajes calculados sobre las ganancias o utilidades que rinda la explotación del invento o producto.

Cuando la patente expira, la información pasa al dominio público y cualquiera puede usar la invención sin pagar derechos a nadie. Esto es una oportunidad que algunos países o compañías han aprovechado legalmente para producir productos cuyas patentes están vencidas, a bajo costo. Las patentes vencidas deben con-

siderarse como una oportunidad tecnológica sin otro costo que no sea el de localizar e implementar oportunamente tales instrumentos.

La sociedad tiene un beneficio con las patentes ya que sus dueños, a cambio de la protección temporal que se les otorga, *deben publicar información sobre su invención*. Esto enriquece el conocimiento técnico de la humanidad y promueve la creatividad y la innovación. La historia ha probado que las sociedades que más tradición tienen en innovación y su necesaria protección intelectual son las que mayor bienestar económico han generado a sus habitantes.

Durante su vigencia, una patente no se puede usar sin permiso de su dueño, pero la información técnica está disponible y puede ser usada para generar nuevos inventos, que a su vez puedan ser patentados, o bien para tener una guía sobre qué *no* investigar de un determinado proceso o producto. Las patentes son necesarias porque reconocen la creatividad y son incentivos para la innovación.

¿Cómo se concede una patente ?

El proceso, que se ilustra esquemáticamente en la figura 14.1, se inicia con la presentación de una solicitud. Los periodos de tiempo son indicativos de la duración de cada etapa. Esto se hace ya sea en una oficina nacional de patentes, en una oficina regional (como la Europea, por ejemplo) o bien, a través del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT, por sus siglas en inglés).

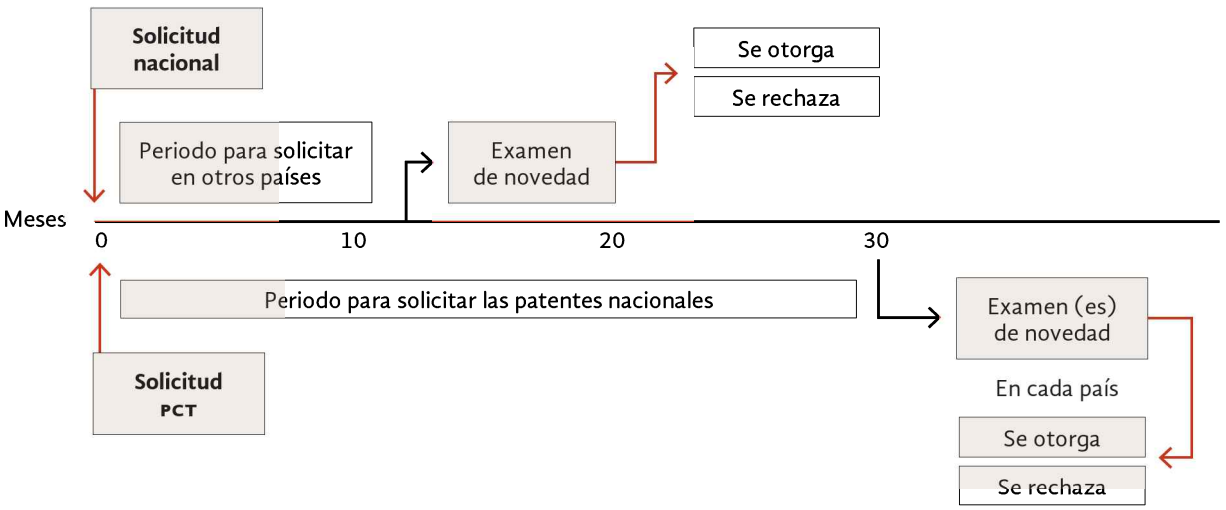


Figura 14.1 Pasos típicos que se siguen para la obtención de una patente.

La fecha en la que se registra (o solicita) la patente establece lo que se llama la *fecha de prioridad*, que es la que cuenta para todo derecho o controversia sobre su novedad. Si la patente se otorga (véase más adelante), ésta será la fecha oficial. Esto quiere decir que cualquier otra patente que haya sido registrada después de esta fecha y que reclame lo mismo que la patente en cuestión no se considerará válida para otorgar derechos a sus autores. Como en el caso de las publicaciones, el reconocimiento no se le otorga al primero que hizo la aportación, descubrimiento o invento, sino al primero que lo publicó, ya sea en un artículo científico o en una solicitud de patente.

El segundo paso parece algo extraño y burocrático: esperar un año en la oficina de patentes en donde se ingresó la solicitud sin hacer absolutamente nada. Ese año, que se denomina *de gracia*, sirve para que el titular de la solicitud de patente solicite la patente en tantos países como lo crea conveniente. Este año de gracia debe ser usado como un periodo adicional para planear la producción o la comercialización de la invención.

Hay que enfatizar que *no hay patentes mundiales*. En todos los países en los que se solicite la patente, si se otorga, se considerará la fecha de prioridad como la fecha de inicio de vigencia de la patente. La decisión sobre dónde patentar obedece a una situación de beneficio económico potencial. Usualmente se patenta en países en donde se piensa que habrá algún interesado que comercializará el invento y que por lo tanto, para que lo use, tendrá que pedir permiso, previo pago, al titular. No tiene mucho sentido patentar en países en donde no se prevea que el invento pueda tener usuarios. En vista de que cada solicitud de patente tiene un costo (véase más adelante), el número de países en el que se patente debe ser cuidadosamente seleccionado y obedecer a una estrategia comercial.

Ya que las patentes no son universales y que no es práctico patentar en todos los países del mundo, siempre habrá países en donde un determinado invento no esté patentado. En tales países, el invento puede ser usado libremente sin pedirle permiso a su dueño y es legal comercializarlo sin pagarle nada al titular de la patente (siempre y cuando no se comercialice en países donde sí está patentado).

El tercer paso en el proceso de otorgar una patente es el *examen de novedad*. Esto se hace normalmente una vez que ha concluido el año de gracia de la solicitud. El examen de novedad consiste en que un cuerpo de revisores de la oficina de patentes en donde se ingresó la solicitud determina si el invento descrito en la solicitud:

– **tiene uso práctico**, no se pueden patentar ideas o meros descubrimientos;
– **es nuevo**, esto es, que nadie antes lo ha publicado (aun si es informalmente) o patentado a nivel mundial;
– **tiene un paso inventivo no obvio** que no podría ser deducido por una persona con un conocimiento medio del ámbito técnico;
– **es legalmente patentable**. Hay cosas que la ley establece que no se pueden patentar, pero eso depende de las leyes de cada país. Por ejemplo, en algunos países no son patentables las teorías científicas, las razas animales, las variedades vegetales, el material genético natural, los métodos matemáticos, el instrumental quirúrgico, etcétera.

Si la solicitud cumple con todos los requisitos anteriores, entonces la patente se otorga. Todo este procedimiento dura típicamente varios años, mínimo dos y puede tardar hasta ocho años. Sin embargo, la vigencia de la patente se establece con la fecha de prioridad, por lo que el titular de la patente puede contar con un número muy limitado de tiempo para recuperar la inversión que hizo en desarrollarla.

Una patente consiste en los siguientes elementos (véanse algunos ejemplos en las figuras 14.2-14.5, pp. 145-148):

1. Título.
2. Resumen.
3. Antecedentes de la invención.
4. Descripción detallada de la invención.
5. Ejemplos (procesos), dibujos (equipos).
6. Reivindicaciones (novedad).

El documento de patente especifica claramente quiénes son los inventores y quién es el dueño de la patente.

El **título** de una patente tiene que ser conciso pero suficientemente descriptivo con el fin de indicar claramente lo que se quiere proteger. Los **inventores** son las personas que han desarrollado el producto o proceso nuevo que se describe en la patente y que se deben mencionar desde el momento en que se hace la solicitud de la patente. Los inventores son los dueños intelectuales de la patente, esto es, a quienes se les reconoce el hecho de haber sido los primeros a nivel internacional en hacer un nuevo proceso o producto; sin embargo, no necesariamente son los dueños comerciales de la patente. El dueño de los derechos comerciales de la patente —llamado **causahabiente** (*assignee*, en inglés)— es usualmente, mediante contratos específicos con sus empleados, la empresa o institución en donde laboran los inventores y en donde llevaron a cabo la investigación o el desarrollo que dio origen a la patente. En el caso de los inventores que trabajan por su cuenta, el inventor es lo mismo que el dueño. En las empresas, en general los inventores, por los contratos usuales que tienen con sus patrones, no tienen ningún derecho sobre las regalías que pueden generar las patentes. Por su parte, en las instituciones académicas o centros públicos de investigación, generalmente hay reglas que establecen que, cuando una patente se comercializa, los inventores que trabajan en esa institución tienen derecho a un porcentaje sobre las regalías. Por ejemplo, en una universidad como la Nacional Autónoma de México, ese porcentaje está fijado en un 50 por ciento.

El **resumen** de una patente tiene que describir breve pero concisamente (unas 100-200 palabras) los aspectos más relevantes de la invención. Este resumen es particularmente importante ya que es el que se encuentra disponible en primera instancia en las bases electrónicas de datos que se usan para averiguar si algo está patentado y en dónde.

Los **antecedentes** de la invención describen el llamado "estado del arte" en el campo en cuestión. Debe revisar toda la información relevante sobre el proceso o producto que esté disponible en el momento de la solicitud. Debe incluir tanto literatura científica (usualmente publicada en revistas arbitradas e indizadas) como patentes previas relacionadas con el producto o proceso, así como cualquier otra información que se haya hecho pública por cualquier medio en relación con el tema específico de la patente en cuestión. El objetivo central de esta sección es evidenciar que no hay nada idéntico a lo que se está pretendiendo patentar.

La **descripción detallada** de la invención es una de las partes más importantes en una patente. Debe describir con todo detalle los procedimientos, composiciones, condiciones, materiales, etc., que son necesarios para construir o fabricar el producto o llevar a cabo el proceso que se está patentando. Es la parte más rica —desde el punto de vista técnico— de una patente y es la que debe servir para que quien la licencie pueda fabricar el producto o reproducir el proceso en cuestión. Sin embargo, es muy común que lo descrito en esta parte (que es la más detallada) no revele los aspectos más críticos del proceso o producto, los cuales se reservan para cuando la patente se licencie. Sin embargo, debe ser lo suficientemente descriptivo como para cubrir rangos amplios de las condiciones o especificaciones del producto o proceso, que permitan lograr una protección con la mayor cobertura posible. Por ejemplo, si se trata de la temperatura a la que se debe llevar a cabo un proceso, se establecen rangos, más que un valor único. Esto evita en cierta medida que terceros puedan infringir derechos de una patente simplemente cambiando un poco las condiciones de operación del proceso o de fabricación del producto.

Otra parte de la patente se refiere a los **ejemplos** y los **dibujos**. La presentación de ejemplos de uso específico de la patente tiene como objetivo demostrar que, en efecto, lo descrito en la patente es útil en al menos

los ejemplos que se presenten. De otra manera, sería posible patentar productos o procesos que no tuvieran una utilidad práctica específica. Hay que enfatizar que los ejemplos son justo eso: ejemplos, y que no limitan el uso de la patente exclusivamente a ellos. Desde luego, es conveniente proporcionar el mayor número de ejemplos de aplicación del proceso o producto en cuestión. Los dibujos son muy útiles sobre todo cuando se trata de equipos, maquinaria, etc., con el fin de describirlos con el mayor detalle posible, lo que usualmente no sería suficiente sólo con palabras.

Las **reivindicaciones** son sin duda la parte más importante y crítica en una patente, ya que en ellas se establece (y se reivindica como propio —de allí su nombre—) todo lo que se reclama como novedoso y que por lo tanto la patente protege como de propiedad del causahabiente y de autoría de los inventores. La redacción de las reivindicaciones es lo más crítico al escribir una patente ya que de ello dependerá lo bien que se pueda proteger un nuevo proceso o producto y por lo tanto lo bien que se podrá defender en un juicio en contra de alguien que la infrinja. Las reivindicaciones deben listar **todos** los posibles usos del proceso o producto en cuestión y las posibles combinaciones entre ellos. Para ilustrar esto vale la pena reproducir (traducidas al español) las reivindicaciones que se hacen en la patente estadunidense núm. 6,270,785 B1, otorgada el 7 de agosto de 2001 y cuyo título es:

Secuencia primaria y cDNA de toxinas efectivas como insecticidas de escorpiones del género Centruroides

Las revindicaciones son:

1. Un péptido efectivo como insecticida, llamado Cn10, purificado del veneno del escorpión *Centruroides noxious* Hoffmann, consistiendo en la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 1 o mutaciones equivalentemente funcionales teniendo al menos 85 % de identidad con SEQ ID NO: 1.
2. El péptido que, de acuerdo con la reivindicación 1, es tóxico para insectos pero no es tóxico para mamíferos.
3. Un péptido efectivo como insecticida, llamado C113, purificado del veneno del escorpión *Centruroides limpidus limpidus* Karsch, consistiendo de la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 2 o mutaciones funcionalmente equivalentes con al menos 80 % de identidad con SEQ ID NO: 2.
4. El péptido que, de acuerdo a la reivindicación 3, es tóxico para insectos pero no es tóxico para mamíferos.
5. Un péptido, aislado y purificado del veneno de escorpiones del género *Centruroides*, consistiendo de una secuencia de entre 60 y 70 aminoácidos, conteniendo ocho residuos de cisteína en posiciones equivalentes a las posiciones 12, 16, 25, 29, 46, 48 y 65 en el péptido de la reivindicación 1, siendo de carácter básico, mostrando al menos 85 % de identidad con Cn10 o al menos 80 % de identidad con C113 y siendo efectivo como insecticida.
6. Una preparación que contiene al menos un péptido efectivo como insecticida, de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a la 5.
7. Un método para controlar plagas de insectos que comprende el paso de administrar al menos un péptido efectivo como insecticida, de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a la 5.
8. Un péptido efectivo como insecticida, purificado del veneno del escorpión *Centruroides noxius* Hoffmann, consistiendo en la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 1.
9. Un péptido efectivo como insecticida purificado del veneno del escorpión *Centruroides limpidus limpidus*, consistiendo en la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 2.

10. Una preparación que contiene al menos un péptido efectivo como insecticida de acuerdo con la reivindicación 8 o la reivindicación 9.
11. Un método para controlar plagas de insectos comprendiendo el paso de administrar al menos un péptido efectivo como insecticida de acuerdo a la reivindicación 8 o a la reivindicación 9.

El texto de una patente se dice coloquialmente que está redactado en el idioma "patentis" ya que es una combinación del idioma oficial y la jerga legal que permite proteger de la mejor manera lo que se desea reclamar como propiedad del dueño de la patente.

En el Apénice (p. 181) se presentan los documentos completos de dos patentes otorgadas (una en México y otra en Estados Unidos) y una solicitud PCT.

Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial

TITULO DE PATENTE DE INVENCION NUMERO: 186488

TITULAR(ES): UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO.CENTRO DE INVESTIGACIONES SOBRE INGENIERIA GENETICA Y BIOTECNOLOGIA

DOMICILIO(S): APDO. 510-3, COLONIA MIRAVAL, C.P. 62270, CUERNAVACA, MORELOS, MEXICO.

DENOMINACION: PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE GOMA XANTANA CLARIFICADA CON BAJO CONTENIDO DE NITROGENO

CLASIF.INT : C12P19/06

INVENTOR(ES): ENRIQUE GALINDO FENTANES, MA. EUGENIA RAMIREZ GUAPO, JOSE FERNANDO FLORES FIGUEROA, JESUS TORRES MERINO, EDMUNDO BRITO DE LA FUENTE, FEDERICO GARCIA JIMENEZ

SOLICITUD

NUMERO: 13043 FECHA DE PRESENTACION: 15 DE SEPTIEMBRE DE 1988 HORA: 9:26

PRIORIDAD

PAIS: FECHA: NUMERO:

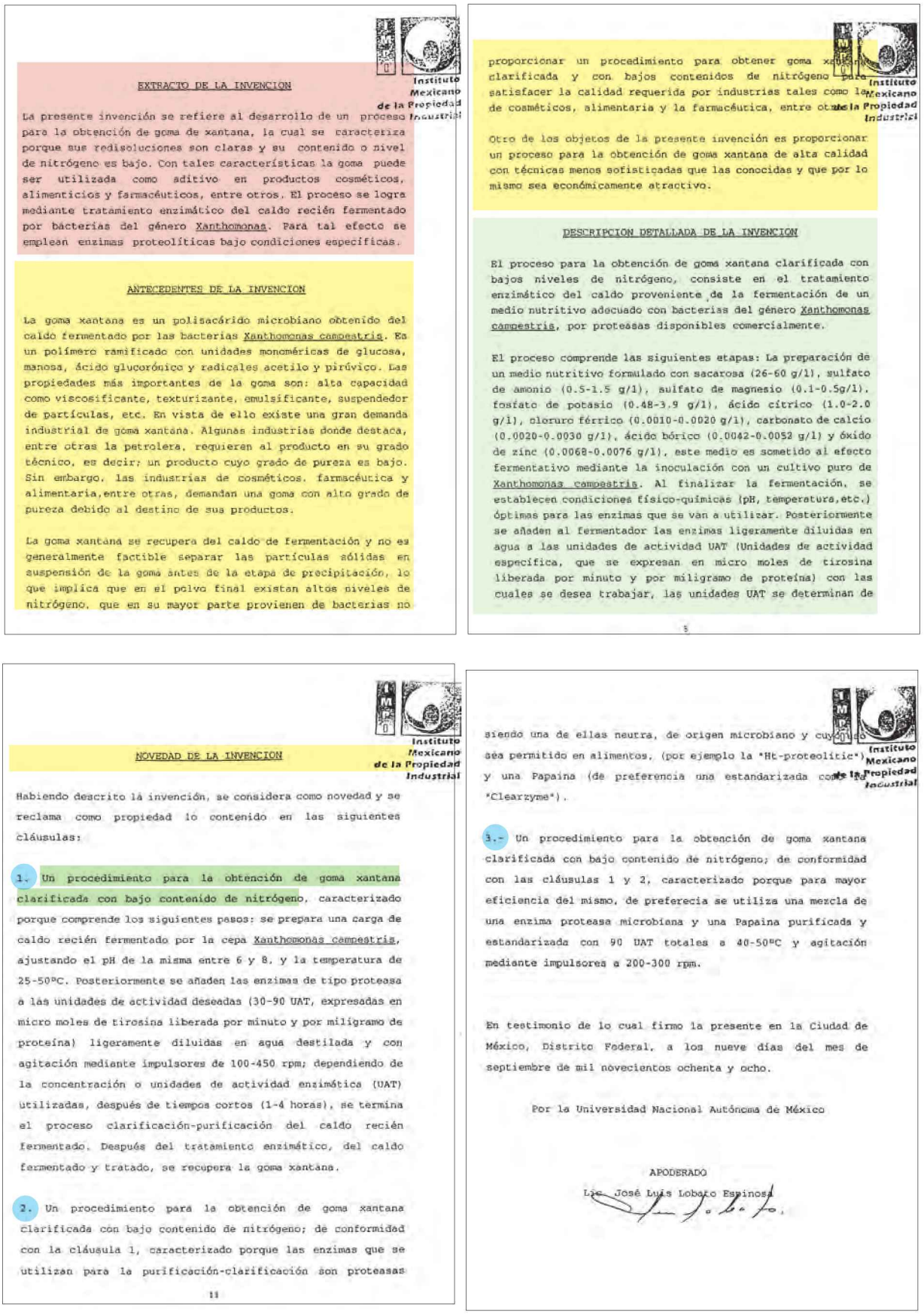
ESTA PATENTE CONCEDE A SU TITULAR EL DERECHO EXCLUSIVO DE EXPLOTACION DEL INVENTO RECLAMADO EN EL CAPITULO REIVINDICATORIO Y TIENE UNA VIGENCIA DE VEINTE AÑOS IMPRORROGABLES CONTADOS A PARTIR DE LA FECHA DE PRESENTACION DE LA SOLICITUD.

FECHA DE EXPEDICION
15 DE OCTUBRE DE 1997

EL DIRECTOR GENERAL

LIC. JORGE AMIGO CASTAÑEDA

Figura 14.2 Certificado y carátula de una patente mexicana



EXTRACTO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere al desarrollo de un proceso para la obtención de goma de xantana, la cual se caracteriza porque sus redisoluciones son claras y su contenido o nivel de nitrógeno es bajo. Con tales características la goma puede ser utilizada como aditivo en productos cosméticos, alimenticios y farmacéuticos, entre otros. El proceso se logra mediante tratamiento enzimático del caldo recién fermentado por bacterias del género Xanthomonas. Para tal efecto se emplean enzimas proteolíticas bajo condiciones específicas.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La goma xantana es un polisacárido microbiano obtenido del caldo fermentado por las bacterias Xanthomonas campestris. Es un polímero ramificado con unidades monoméricas de glucosa, manosa, ácido glucorónico y radicales acetilo y pirúvico. Las propiedades más importantes de la goma son: alta capacidad como viscosificante, texturizante, emulsificante, suspendedor de partículas, etc. En vista de ello existe una gran demanda industrial de goma xantana. Algunas industrias donde destaca, entre otras la petrolera, requieren al producto en su grado técnico, es decir; un producto cuyo grado de pureza es bajo. Sin embargo, las industrias de cosméticos, farmacéutica y alimentaria, entre otras, demandan una goma con alto grado de pureza debido al destino de sus productos.

La goma xantana se recupera del caldo de fermentación y no es generalmente factible separar las partículas sólidas en suspensión de la goma antes de la etapa de precipitación, lo que implica que en el polvo final existan altos niveles de nitrógeno, que en su mayor parte provienen de bacterias no

proporcionar un procedimiento para obtener goma xantana clarificada y con bajos contenidos de nitrógeno para satisfacer la calidad requerida por industrias tales como la de cosméticos, alimentaria y la farmacéutica, entre otras.

Otro de los objetos de la presente invención es proporcionar un proceso para la obtención de goma xantana de alta calidad con técnicas menos sofisticadas que las conocidas y que por lo mismo sea económicamente atractivo.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

El proceso para la obtención de goma xantana clarificada con bajos niveles de nitrógeno, consiste en el tratamiento enzimático del caldo proveniente de la fermentación de un medio nutritivo adecuado con bacterias del género Xanthomonas campestris, por proteasas disponibles comercialmente.

El proceso comprende las siguientes etapas: La preparación de un medio nutritivo formulado con sacarosa (26-60 g/l), sulfato de amonio (0.5-1.5 g/l), sulfato de magnesio (0.1-0.5g/l), fosfato de potasio (0.48-3.9 g/l), ácido cítrico (1.0-2.0 g/l), cloruro férrico (0.0010-0.0020 g/l), carbonato de calcio (0.0020-0.0030 g/l), ácido bórico (0.0042-0.0052 g/l) y óxido de zinc (0.0068-0.0076 g/l), este medio es sometido al efecto fermentativo mediante la inoculación con un cultivo puro de Xanthomonas campestris. Al finalizar la fermentación, se establecen condiciones físico-químicas (pH, temperatura, etc.) óptimas para las enzimas que se van a utilizar. Posteriormente se añaden al fermentador las enzimas ligeramente diluidas en agua a las unidades de actividad UAT (Unidades de actividad específica, que se expresan en micro moles de tirosina liberada por minuto y por miligramo de proteína) con las cuales se desea trabajar, las unidades UAT se determinan de

5

NOVEDAD DE LA INVENCION

Habiendo descrito la invención, se considera como novedad y se reclama como propiedad lo contenido en las siguientes cláusulas:

1. Un procedimiento para la obtención de goma xantana clarificada con bajo contenido de nitrógeno, caracterizado porque comprende los siguientes pasos: se prepara una carga de caldo recién fermentado por la cepa Xanthomonas campestris, ajustando el pH de la misma entre 6 y 8, y la temperatura de 25-50°C. Posteriormente se añaden las enzimas de tipo proteasa a las unidades de actividad deseadas (30-90 UAT, expresadas en micro moles de tirosina liberada por minuto y por miligramo de proteína) ligeramente diluidas en agua destilada y con agitación mediante impulsores de 100-450 rpm; dependiendo de la concentración o unidades de actividad enzimática (UAT) utilizadas, después de tiempos cortos (1-4 horas), se termina el proceso clarificación-purificación del caldo recién fermentado. Después del tratamiento enzimático, del caldo fermentado y tratado, se recupera la goma xantana.

2. Un procedimiento para la obtención de goma xantana clarificada con bajo contenido de nitrógeno; de conformidad con la cláusula 1, caracterizado porque las enzimas que se utilizan para la purificación-clarificación son proteasas

11

siendo una de ellas neutra, de origen microbiano y cuyo uso sea permitido en alimentos, (por ejemplo la "Ht-proteolitic") y una Papaina (de preferencia una estandarizada como la "Clearzyme").

3.- Un procedimiento para la obtención de goma xantana clarificada con bajo contenido de nitrógeno; de conformidad con las cláusulas 1 y 2, caracterizado porque para mayor eficiencia del mismo, de preferecia se utiliza una mezcla de una enzima proteasa microbiana y una Papaina purificada y estandarizada con 90 UAT totales a 40-50°C y agitación mediante impulsores a 200-300 rpm.

En testimonio de lo cual firmo la presente en la Ciudad de México, Distrito Federal, a los nueve días del mes de septiembre de mil novecientos ochenta y ocho.

Por la Universidad Nacional Autónoma de México

APODERADO

Lic. José Luis Lobato Espinosa

Figura 14.3 Ejemplo de extracto, antecedentes, descripción detallada y reivindicaciones (novedad) de una patente mexicana.

Figura 14.4 Certificado, portada, resumen y ejemplos dentro de una patente estadunidense.

US006270785B1

(12) **United States Patent**
Selisko et al.

(10) **Patent No.: US 6,270,785 B1**
(45) **Date of Patent: Aug. 7, 2001**

(54) **PRIMARY SEQUENCE AND CDNA OF INSECTICIDALLY EFFECTIVE TOXINS FROM SCORPIONS OF THE GENUS CENTRUROIDES**

What is claimed is:

1. An insecticidally effective peptide, named Cn10, purified from the venom of the scorpion *Centruroides noxius* Hoffmann, consisting of the amino acid sequence SEQ ID NO: 1 or functionally equivalent mutations having at least 85% identity with SEQ ID NO: 1.

2. The peptide according to claim **1**, which is toxic to insects but non-toxic to mammals.

3. An insecticidally effective peptide, named C113, purified from the venom of the scorpion *Centruroides limpidus limpidus* Karsch, consisting of the amino acid sequence SEQ ID NO: 2 or functionally equivalent mutations having at least 80% identity with SEQ ID NO: 2.

4. The peptide according to claim **3**, which is toxic to insects but non-toxic to mammals.

5. A peptide isolated and purified from the venom of scorpions of the genus Centruroides, consisting of a sequence of 60 to 70 amino acids, containing eight cysteine residues in equivalent positions to positions 12, 16, 25, 29, 46, 48, and 65 in the peptide of claim **1**, being of basic character, showing at least 85% identity to Cn10 or at least 80% identity to C113 and being insecticidally effective.

6. A preparation which contains at least one insecticidally effective peptide according to any one of claims **1** to **5**.

7. A method of controlling insect pests comprising the step of administering at least one insecticidally effective peptide according to any one of claims **1** to **5**.

8. An insecticidally effective peptide purified from the venom of the scorpion *Centruroides noxius* Hoffmann, consisting of the amino acid sequence SEQ ID NO:1.

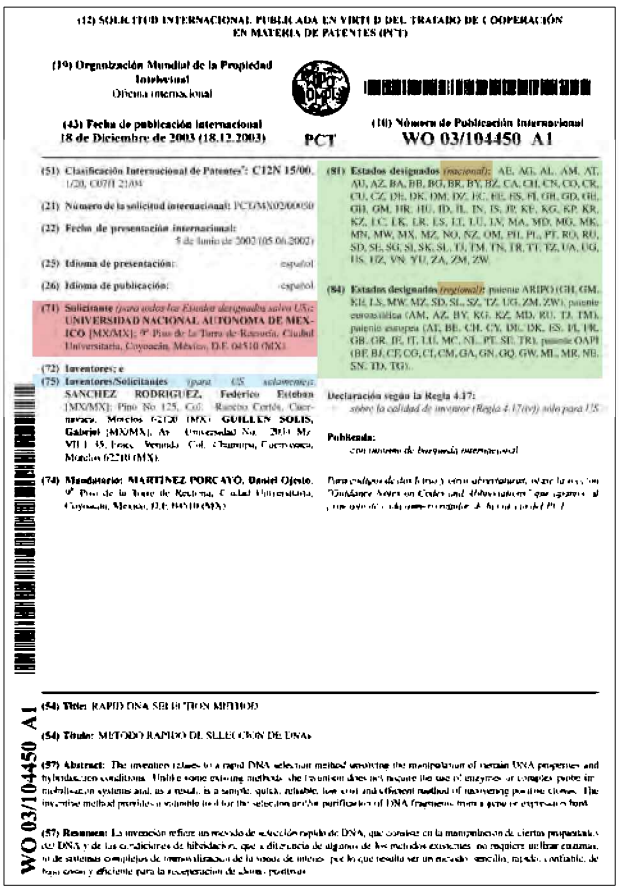
9. An insecticidally effective peptide purified from the venom of the scorpion *Centruroides limpidus limpidus* Karsch, consisting of the amino acid sequence SEQ ID NO: 2.

10. A preparation which contains at least one insecticidally effective peptide according to claim **8** or claim **9**.

11. A method of controlling insect pests comprising the step of administering at least one insecticidally effective peptide according to claim **8** or claim **9**.

* * * * *

Figura 14.5 Ejemplo de reivindicaciones (novedad) de una patente estadunidense.



(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad Intelectual
Oficina Internacional

(43) Fecha de publicación internacional
18 de Diciembre de 2003 (18.12.2003)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 03/104450 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes⁷: C12N 15/00, 1/20, C07H 21/04

(21) Número de la solicitud internacional: PCT/MX02/00050

(22) Fecha de presentación internacional:
5 de Junio de 2002 (05.06.2002)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(71) Solicitante (para todos los Estados designados salvo US): UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO [MX/MX]; 9° Piso de la Torre de Rectoría, Ciudad Universitaria, Coyoacán, México, D.F. 04510 (MX).

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes (para US solamente): SANCHEZ RODRIGUEZ, Federico Esteban [MX/MX]; Pino No. 125, Col. Rancho Cortés, Cuernavaca, Morelos 62120 (MX). GUILLEN SOLIS, Gabriel [MX/MX]; Av. Universidad No. 2011 Mz VII Lt 45, Fracc. Vernanda Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos 62210 (MX).

(74) Mandatario: MARTINEZ PORCAYO, Daniel Ojeda; 9° Piso de la Torre de Rectoría, Ciudad Universitaria, Coyoacán, México, D.F. 04510 (MX).

(81) Estados designados (nacional): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados designados (regional): patente ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW); patente euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM); patente europea (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR); patente OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declaración según la Regla 4.17:
sobre la calidad de inventor (Regla 4.17(iv)) sólo para US

Publicada:
con informe de búsqueda internacional

(54) Título: RAPID DNA SELECTION METHOD

(54) Título: METODO RAPIDO DE SELECCION DE DNAs

(57) Abstract: The invention relates to a rapid DNA selection method involving the manipulation of certain DNA properties and hybridization conditions. Unlike some existing methods, the current does not require the use of enzymes or complex probe immobilization systems and, as a result, is a simple, quick, reliable, low cost and efficient method of recovering positive clones. The invention method provides a reliable tool for the selection and/or purification of DNA fragments from a gene of expression limit.

(57) Resumen: La invención refiere un método de selección rápida de DNA, que consiste en la manipulación de ciertas propiedades del DNA y de las condiciones de hibridación, que a diferencia de algunos de los métodos existentes no requiere utilizar enzimas, ni de sistemas complejos de inmovilización de la sonda de interés, por lo que resulta ser un método sencillo, rápido, confiable, de bajo costo y eficiente para la recuperación de clones positivos.

WO 03/104450 A1

Figura 14.6 Portada de una solicitud de patente mediante el sistema PCT.

El costo de una patente

Una patente tiene dos tipos de costos: aquellos que se derivan de la solicitud y aquellos que se tienen que cubrir por mantener su vigencia. Estos costos, además de tener el objeto de cubrir los gastos administrativos de las oficinas de patentes, son una forma de presionar al dueño de la patente para que comercialice su invento. De no hacerlo tendrá que cubrir costos que no recuperará. Se cubren como cuotas anuales, es decir, por cada año de vigencia.

El costo de una solicitud depende del país en el que se solicite. Por ejemplo, en un país latinoamericano como México, una solicitud de patente costaba (en 2006) alrededor del equivalente de unos 850 dólares estadunidenses. La anualidad, en el mismo año, costaba entre 65-180 dólares.

En Estados Unidos, una solicitud de patente cuesta aproximadamente 10 000 dólares, y su anualidad, entre 800 y 2 000 dólares. Una solicitud a través del sistema PCT tiene un costo cercano a los 4 000 dólares. Hay que recordar que este sistema sólo es una forma de solicitar la patente en muchos países simultáneamente; sin embargo, no incluye la fase nacional de las patentes, cuyos montos se han ejemplificado con los costos en México y en Estados Unidos.

El costo de una patente, sobre todo en un país diferente al local, está determinado por los costos de contratación de oficinas de abogados especializados, cuyos servicios son casi siempre necesarios para llevar a cabo la redacción final de la patente en el idioma local y hacer los trámites necesarios en el país en cuestión.

Patente frente a artículo científico

Si un investigador trabaja para una empresa, su producto primario puede ser un desarrollo tecnológico mantenido como "secreto industrial" o puede ser una patente. Si es conveniente para la empresa, y después de haber patentado su producto o proceso, puede autorizar al investigador a publicar sus resultados en revistas de referencia internacionales.

La situación es más compleja para un investigador universitario, sobre todo en los países de baja tradición en innovación. Este académico usualmente tiene una disyuntiva entre publicar o patentar. Si decide publicar la información relevante de su invento o desarrollo, perderá la posibilidad de patentarlo, por ejemplo, en los países de la Unión Europea. En otros países como México, la legislación de patentes otorga un año de gracia entre la publicación y la posibilidad de solicitar la patente.

Hay que tener en cuenta que "publicación" para una oficina de patentes se considera cualquier medio para hacer pública la información. Esto incluye presentaciones en congresos, conferencias de divulgación, tesis, páginas web, etc. Por ello, el investigador que haya decidido patentar sus desarrollos o inventos, debe ser muy cuidadoso con el material que haga público. La patente se puede negar por información divulgada por el propio investigador o grupo de investigación.

Las patentes no son —ni deberían ser— un elemento importante de evaluación académica de los investigadores. Para obtener una patente se requiere fundamentalmente lo siguiente: a) que el producto o proceso sea nuevo (a nivel internacional); b) que tenga utilidad práctica, y c) que se cubran todos los requisitos legales y los costos involucrados en el proceso de solicitud de la patente y, si se otorga, los derechos de vigencia de la misma. En consecuencia, estrictamente hablando, una patente no debería usarse, aisladamente, como un elemento de evaluación académica ya que el proceso para obtenerla no implica, necesariamente, elementos de calidad y de rigor técnico. Ello no quiere decir, que se pueda patentar cualquier cosa, que el proceso sea

trivial y que no tenga un determinado valor intrínseco. El valor de una patente es fundamentalmente comercial y de protección de áreas de mercado. Por otra parte, el obtener una patente no garantiza que se logre la implementación y comercialización del desarrollo, producto o proceso.

Los mitos y las oportunidades de las patentes

Es común que, entre los no especialistas, cuando alguien dice que algo "está patentado", se considere —también por los no especialistas— como algo intocable y que es propiedad de alguna corporación multinacional. Al respecto, hay que poner en claro dos cosas:

a) ¿está patentado en el país de interés?
b) ¿está vigente la patente?

En las respuestas a estas dos preguntas se encuentran las principales oportunidades que ofrecen las patentes.

Si no está patentado en el país de interés, se puede usar libremente el conocimiento incluido en la patente para hacer el producto o llevar a cabo el proceso que la patente protege (en otros países). La única limitación es que no se puede exportar el producto a países en donde sí se haya depositado la patente, ni se puede usar el proceso para hacerlo en ninguno de estos países.

Si la patente ya venció, se puede usar libremente el conocimiento que se describe en la patente, sin que haya necesidad de informar o pagar regalías al dueño.

Varias empresas han aprovechado estas dos oportunidades que ofrecen las patentes para hacer negocio con un determinado producto o proceso, de una forma perfectamente legal. De hecho, lo que resulta muy preocupante en países de baja tradición de innovación es que hay muy pocas empresas, cuando las hay, que usen este mecanismo tecnológico legal para incrementar su acervo tecnológico y sus posibilidades de negocio. Usar legalmente el conocimiento que han generado otros es justamente una de las características, al menos en la etapa de despegue, de aquellos países que han desarrollado una alta tradición en innovación (por ejemplo, Japón, India, Corea y China).

Lecturas adicionales sugeridas

OMPI (Organización Mundial de la Propiedad Intelectual), *Acerca de la propiedad intelectual*, 2006. Disponible en: <http://www.wipo.or/about-ip/es/>. Documento que describe breve y claramente las características de los instrumentos de propiedad intelectual, incluyendo, además de las patentes, los derechos de autor, las marcas, los dibujos y modelos industriales y la denominación de origen.

OMPI (Organización Mundial de la Propiedad Intelectual), *La propiedad intelectual al servicio del crecimiento económico*, 2006. Disponible en <http://www.wipo.int/edocs/prdocs/es/2003/wipo_pr_2003_337.html>. Interesante documento que describe el papel de la propiedad intelectual en el crecimiento económico. De particular interés es la sección "La invención en su hogar".

15. INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL A NIVEL PREUNIVERSITARIO

Nadie es más inteligente que a los 16 años

Anónimo

La importancia de la educación científica en los jóvenes

La investigación científica es una actividad que se aprende fundamentalmente con la práctica y observando de cerca el trabajo de los científicos más experimentados. La investigación es inherente a la curiosidad natural del ser humano y puede llevarse a cabo desde fases muy tempranas de la educación formal. Es muy recomendable que los estudiantes tengan esa experiencia ya que les permitirá abordar mejor las diversas y complejas situaciones a las que se enfrentarán si finalmente deciden cursar una carrera profesional y, si no, también les servirá en su vida cotidiana.

La participación de los alumnos en proyectos de investigación, por otro lado, permite que los jóvenes desarrollen habilidades y destrezas que serán aplicables en cualquiera que sea su actividad futura. La sociedad actual demanda ciudadanos que tengan un dominio mínimo del conocimiento científico.

Generalmente los estudiantes son capaces de desarrollar algún proyecto de investigación, con bases mínimas, a partir del séptimo año escolar. Los temas tratados en los capítulos previos de este libro se aplican también para el caso de estudiantes de nivel preuniversitario. La única diferencia es que el estudiante de pre y posgrado tiene más tiempo, más conocimientos acumulados (en teoría) y recursos (técnicos, de equipo, etc.) para investigar un aspecto muy especializado y particular de la naturaleza, con respecto a aquellos que se encuentran en el nivel preuniversitario (entre el séptimo y duodécimo año de la educación escolarizada). Éstos suelen generar ideas brillantes sobre temas sorprendentes y en muchos casos hacen maravillas con muy limitados recursos, escasísimo tiempo y los muchos distractores que tienen a su edad (entre 11 y 19 años).

La ciencia experimental en la educación preuniversitaria

Hay que decir, sin embargo, que de forma general, el enfoque *experimental* de la ciencia es muy poco frecuente en las escuelas de nivel preuniversitario y las razones, además de lo poco flexibles que pueden llegar a ser los programas de estudio de las materias de carácter científico (física, química, matemáticas y biología), incluyen el hecho de que los profesores han tenido poca experiencia práctica en el trabajo experimental y que éstos dificilmente han tenido algún tipo de contacto con científicos. Otra razón incluye el hecho de que en muchas escuelas la infraestructura de laboratorios es muy limitada y en otras, a pesar de contar con el equipamiento necesario, es subutilizado por diversas razones.

Indagación contra investigación

Es muy importante señalar que el término *investigación* indica la generación de conocimiento. Esto es, que no existía previamente. No se hace una investigación cuando se busca (y se encuentra) información sobre algún tema en fuentes bibliográficas (destacando, cada vez con más frecuencia las de Internet, por su facilidad de acceso) por la sencilla razón de que no se generó nuevo conocimiento: simplemente se recopiló el que se pudo encontrar. Hablando propiamente, a ese proceso se le llama *indagación* y es muy frecuente que se confunda con el de investigación. Ello se debe, en buena medida, a la falsa creencia que el público tiene sobre las características distintivas de la ciencia (la principal: su forma de generar conocimiento) y a la también popular creencia de que todo se puede encontrar en Internet y que por lo tanto no hay realmente necesidad de generar nuevo conocimiento.

Otro concepto erróneo pero muy arraigado es aquel que dice que la investigación es una actividad particularmente complicada, de alto nivel profesional y que requiere de infraestructura muy sofisticada y costosa para llevarse a cabo. Y de alguna manera ésa es la "justificación" para sólo hacer indagación (casi siempre pretendiendo que se hace investigación). Si bien la investigación profesional tiene algunas de tales características, la generación de conocimiento (que es lo fundamental de la investigación) puede llevarse a cabo a cualquier nivel escolar y sin necesidad de equipos, materiales y laboratorios costosos. Ilustraré lo anterior con una experiencia que tuve al ser jurado de una feria de ciencias en una escuela del nivel básico (7°-9° grados):

> Un equipo de estudiantes presentaba un volantín para demostrar "la importancia del movimiento". Les pregunté si podrían calcular la velocidad del volantín y cómo lo harían. No supieron contestarme. Entonces les propuse hacer un experimento con su volantín y calcular, ahí mismo, la velocidad a la que giraba el volantín. Con mi reloj de pulsera medimos el tiempo y los estudiantes contaban en voz alta el número de vueltas que daba el volantín, tomando como referencia un punto de un determinado color en el propio volantín. Se sorprendieron de lo que podían hacer experimentalmente y discutimos qué otras mediciones podrían hacer (por ejemplo, cambiar la velocidad del pequeño motor o calcular la velocidad angular).
>
> Otro equipo de estudiantes presentaba unas celdas solares que eran capaces de mover algunos pequeños aparatos en una maqueta de una casa. Tenían un potente foco para generar la luz en las celdas y también tenían un multímetro que les permitía medir el voltaje generado por las celdas. Sin embargo, su proyecto sólo incluía la demostración de que, con luz suficiente, las celdas generan electricidad que puede encender un pequeño foco o un pequeño ventilador. Les sugerí que podrían hacer varios experimentos con el material que ya tenían. Por ejemplo, podrían establecer cuánta energía se generaba en función del área de las celdas (usando sólo algunas de ellas o cubriendo con una cartulina parte de ellas), o podrían determinar la intensidad de la energía generada en función de la distancia de las celdas al foco, o bien podrían simular un cielo nublado, interponiendo un mica blanca entre el foco y las celdas, etcétera.

Lo anterior indica una de las características de la investigación: la *medición* de un parámetro que permita contar con información de un determinado fenómeno. Como lo dijo Galileo Galilei hace más de cuatro siglos: "sólo si puedo medir algo de un fenómeno empezaré a tener idea de su realidad" y, repitiendo la frase con la que inicia el capítulo 2 de este libro: "mide lo que se pueda medir, y lo que no se pueda medir, hazlo medible".

Hay que enfatizar que lo que mayormente forma a un estudiante en el terreno de las ciencias es que se haga preguntas y que trate de contestarlas, aunque sea de forma muy sencilla y con medios simples. En general, en las ferias de ciencias abundan las "demostraciones", pero casi no hay *experimentos*.

La importancia de la experiencia vivencial de la ciencia para jóvenes

Hay que recordar que la ciencia no es un conjunto de conocimientos que deban aprenderse de memoria. El conocimiento es el producto principal de la ciencia. Desde luego, el conocimiento es útil, en el sentido más amplio de la palabra "útil", pero lo fundamental de la ciencia es la forma objetiva y rigurosa para generar conocimiento. Este *modus operandi* de la ciencia es lo que es más dificil de enseñar ya que, en realidad, la única forma de aprenderlo es haciéndolo y observando de cerca a los que la hacen profesionalmente (los investigadores o científicos). Es por ello que es particularmente importante que tanto estudiantes como profesores tengan una experiencia vivencial de la ciencia. Hay varias formas en las que se puede tener estas experiencias. Algunas de las más comunes se describen brevemente a continuación.

Laboratorio escolar. Usualmente la educación escolarizada de jóvenes entre 7 y 19 años incluye alguna materia que va acompañada de prácticas de laboratorio. En general, el objetivo de esta actividad es hacer demostraciones prácticas sobre algún principio básico de las ciencias, con el fin de que los estudiantes comprueben que lo que está escrito en los libros tiene una base real y que se percaten de que es posible reproducir cierto fenómeno en el laboratorio. Sin embargo, hay que enfatizar que las demostraciones que se hacen en el laboratorio escolar no pueden considerarse investigación. Desde luego, es posible utilizar el laboratorio escolar para desarrollar un proyecto de investigación, el cual se tendría que hacer fuera del horario de "prácticas" y casi siempre fuera del horario normal de la escuela, razones por las que generalmente no se hace…

Ferias de ciencias. Son eventos relativamente comunes en las escuelas que tienen cierto interés por las ciencias. Normalmente consisten en una exposición ante padres de familia, otros estudiantes y profesores de la escuela, de proyectos de ciencia desarrollados por los estudiantes, generalmente asesorados por uno o varios de sus profesores. Típicamente son demostraciones de algún principio de las ciencias, la reproducción de un fenómeno curioso o interesante o la presentación de algún prototipo de equipo o sistema y su funcionamiento. En general, en estas ferias son comunes los proyectos que describen el ¿qué? de un fenómeno y con muy poca frecuencia el ¿por qué? Son aún más comunes los proyectos que tienen que ver con una indagación documental, generalmente de fuentes de Internet que son las de más fácil acceso. Este tipo de eventos son muy importantes sobre todo para desarrollar habilidades y actividades extra-curriculares de los estudiantes y es, en general, la primera experiencia vivencial que un estudiante tiene sobre "la ciencia". Lo curioso del asunto es que lo más importante de la ciencia (su capacidad para generar conocimiento) es lo que menos caracteriza a éstos eventos. Ése no es un problema de recursos o infraestructura de una determinada escuela, sino de lo limitado y nada vivencial que es el entrenamiento de los profesores en lo que se refiere al pensamiento científico.

Exposiciones científicas y congresos de investigación para jóvenes. Estos eventos son parecidos a las ferias de ciencias descritas anteriormente, con la diferencia de que, en la mayoría de los casos, se llevan a cabo en el formato de concurso. Los trabajos presentados por los estudiantes son evaluados por un panel de jueces, quienes seleccionan a los mejores y otorgan premios a los de mayor calidad. Estos eventos en general aceptan trabajos de varias escuelas y se organizan de forma local, regional, nacional o internacional. Algunos de los eventos de mayor calidad incluyen a investigadores profesionales como integrantes del jurado calificador.

A nivel internacional destaca la organización MILSET (www.milset.org), por sus siglas en francés: *Mouvement International pour le Loisir Scientifique Et Technique* (Movimiento Internacional para el Recreo Científico y

Técnico) que es una organización de la sociedad civil que desarrolla actividades que promueven la cultura científica entre los jóvenes y organiza programas de ciencia y tecnología, incluyendo las *ExpoCiencias*, probablemente los eventos científicos para jóvenes de mayor envergadura a nivel internacional. Estos eventos se organizan en países de habla hispana como México desde el año 2003 (www.expociencias.net). Las categorías incluyen estudiantes de 3° a 9° grados ("Pandilla Científica"), media superior (bachillerato o equivalente, 9° a 12° grados), superior (universidad o equivalente) y una categoría especial para profesores. Algunos de estos eventos publican resúmenes o informes completos de los trabajos presentados y algunos de ellos están disponibles en Internet (véase, por ejemplo, la "Base de datos de proyectos de investigación del nivel medio y medio superior" de la Academia de Ciencias de Morelos, México <www.acmor.org.mx>).

Es muy recomendable la participación en este tipo de eventos, tanto de profesores como de estudiantes, ya que constituye una experiencia muy enriquecedora. Algunas de sus numerosas ventajas incluyen:

– motivan a los estudiantes a hacer su mejor esfuerzo en el desarrollo y presentación de su proyecto;
– es una excelente forma de "fogueo" para los estudiantes, no sólo en los aspectos científicos, sino en términos de su capacidad de expresión y comunicación, capacidad analítica, liderazgo, etcétera;
– permite a los estudiantes (y profesores) constatar el nivel y calidad de muchos otros proyectos de diferentes escuelas;
– independientemente de que resulten o no ganadores, los estudiantes recibirán retroalimentación de alta calidad (en particular de los jurados) para sus proyectos y planteamientos;
– entrena a los estudiantes en los diferentes aspectos del trabajo científico, en particular en la forma crítica en la que serán vistos sus trabajos por los jurados y que simula en cierta medida el rigor que caracteriza a la ciencia;
– permite a directivos y profesores de escuela ver el rendimiento de alumnos y calidad de los trabajos de otras escuelas con características diferentes (con frecuencia con menos recursos), lo que les dará elementos para mejorar el desempeño de sus propios estudiantes.

Aspectos particulares de la investigación a nivel preuniversitario

A continuación se describirán algunos aspectos que, desde el punto de vista del autor, son particulares para la actividad de investigación experimental en el nivel preuniversitario.

Fuentes de información científica accesibles para estudiantes

Como se ha explicado en el capítulo 6, la única fuente de información científica fiable y fidedigna es la que se publica en las revistas científicas especializadas y arbitradas, las llamadas "fuentes primarias". Sin embargo, éstas son en general de difícil acceso y demasiado especializadas para los estudiantes de los niveles 7° a 12° grados. Las fuentes "secundarias", también mencionadas en el capítulo 6, tampoco son de fácil acceso para los estudiantes de este nivel. En general, los estudiantes tienen fácil acceso a fuentes "terciarias" de información científica. A continuación se describen brevemente las "fuentes terciarias" más relevantes, en orden de confiabilidad.

Revistas prestigiadas de divulgación. Incluyen las de tradición como *Scientific American*, *National Geographic* y *La Recherche*, entre otras, con ediciones en español y de amplia distribución en países hispanoparlantes. Estas revistas, como las fuentes primarias, tienen comités editoriales y los artículos publicados son revisados. La información en estas fuentes es de carácter general y, en principio, para todos los públicos. Son una excelente forma de iniciarse en los aspectos básicos, aunque necesariamente generales, de un tema. Estas fuentes son muy útiles a nivel preuniversitario. Por su carácter de divulgación casi nunca incluyen, deliberadamente, la bibliografía de las fuentes primarias. Tienen su mayor valor, no tanto para decidir y preparar un tema de investigación, sino como fuentes de información general seria, en temas científicos, con el fin de que el estudiante vaya adquiriendo la habilidad de manejar información.

Agencias de noticias de sociedades científicas. En estas fuentes es posible encontrar reportajes sobre temas científicos, sobre los investigadores, entrevistas y reseñas de artículos de las fuentes primarias de mayor impacto. La mayoría se encuentran disponibles en Internet. En el cuadro 15.1 se presenta una lista de algunos sitios consultados por el autor y de los cuales se ha verificado su seriedad y fiabilidad, que contienen información científica en español. Son fiables, sobre todo por estar respaldadas por una institución, academia o sociedad científica. Estos sitios son excelentes medios para mantenerse actualizado en temas y en los protagonistas de la ciencia; además constituyen medios de información para el desarrollo de habilidades sobre métodos y procedimientos en ciencia. Asimismo, son fuentes de ideas para identificar temas de interés. Sin embargo, la información de estos sitios no es suficiente para iniciar y plantear un tema de investigación, incluso a nivel preuniversitario.

Academia Mexicana de Ciencias
(www.comunicación.amc.edu.mx)

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (México)
(www.conacyt.mx/comunicacion/Agencia/Index.html)

Dirección General de Divulgación de la Ciencia, Universidad Nacional Autónoma de México
(www.dgdc.unam.mx) en particular: ciencia en linea/noticias cientificas

Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Morelos (México)
Revista "Hypatia": (www.hypatia.morelos.gob.mx)

E-Ciencia (España)
(www.e-ciencia.com)

Academia de Ciencias de Morelos (México)
(www.acmor.org.mx) en particular en la "Biblioteca"

Cuadro 15.1 Lista indicativa de fuentes confiables de información científica de academias, instituciones, etcétera.

Revistas comerciales de divulgación. Su misión no es necesariamente informar adecuadamente y con rigor a su público, sino vender las revistas. No quiere decir que sean de mala calidad y proporcionen información no fidedigna; sin embargo, es necesario estar conscientes de que su princial objetivo es vender el máximo número de ejemplares posible. En general, se presenta la información de forma amarillista o exagerada.

Son en general muy atractivas, sobre todo para los jóvenes, ya que se pone énfasis en aspectos visuales, más que en la información en sí. Este tipo de publicaciones, a diferencia de las académicas, tienen tirajes muy elevados y llegan a sectores amplios de la población.

Libros. Sobre todo los de texto, son fuentes fiables de información científica básica, pero en general son muy poco consultados para diseñar o plantear proyectos de investigación. Un libro, por el tiempo que requiere en edición e impresión, difícilmente llega a contener información novedosa o reciente. La información de los libros es aquella que ha logrado el mayor consenso entre la comunidad científica y educadores; que ha resistido, en aspectos fundamentales, el paso del tiempo. Los libros se usan como referencias para un proyecto o artículo de investigación en los casos donde se quiera enfatizar en un aspecto general o ilustrar un principio bien conocido.

Enciclopedias. Proveen información general y también específica sobre una gran variedad de temas, incluyendo también los científicos. *Encarta* es de las enciclopedias de mayor uso. La enciclopedia "abierta" Wikipedia se está volviendo sin duda la más popular y consultada. Sin embargo, dado su cáracter "abierto", la fiabilidad de la información depositada no puede ser siempre garantizada. Puede usarse con prudencia para documentar aspectos generales en una propuesta o proyecto de investigación a nivel preuniversitario. Sin embargo, es indispensable que los estudiantes vayan más allá de estas fuentes, necesariamente generales.

Fuentes masivas. Aquellas a las que cualquier persona tiene acceso irrestricto y donde puede recibir información de contenido científico. Incluye periódicos, radio, televisión, revistas populares, etc. En general no son fuentes fiables de información científica. Para ilustrar cómo la información puede ser generada en estos medios, en el recuadro 15.1 se reproduce un texto interesante. Algunos diarios o programas de radio y televisión incluyen secciones serias de contenido científico. Sin embargo, éstas son más bien excepcionales. Los canales de television de *National Geographic* y *Discovery* y los programas científicos de la BBC son altamente fiables y muy recomendables.

CIENCIA Y PRENSA

POR JUAN JOSÉ MILLÁS

Un cocinero aseguró por la radio que el insomnio se cura bebiendo medio vaso de agua en la que se haya hervido una cáscara de naranja. El mundo está lleno de insomnes, de modo que el locutor le pidió alguna prueba de lo que decía, a lo que el hombre respondió:

- Está comprobado científicamente.

Luego dijo que el jugo de la patata cruda cura la gastritis y la úlcera de estómago. La gastritis, en tres días; la úlcera, en quince. Como el locutor se mostrara algo escéptico, el cocinero añadió muy serio:

- Está comprobado científicamente.

Continuó dando recetas, una de ellas con alcachofas. Por lo visto, quienes comen muchas alcachofas, crudas también, como la patata, jamás desarrollan un cáncer.

- Pero cómo es posible -exclamó el locutor.

- Está demostrado científicamente -dijo una vez más el cocinero.

¿Por qué la frase "está demostrado científicamente" tiene tanto poder de convicción para algunas personas? Me recuerda aquella otra que le oía decir a mi madre cuando mi padre dudaba de algo:

- Pues ha salido en el periódico.

Si había salido en el periódico, no tenía vuelta de hoja. En el primer periódico en el que trabajé me contaron que un día el director llamó a documentación preguntando si el nombre de una isla lejana, donde un volcán había entrado en erupción, se escribía con hache o sin hache, y no supieron qué decirle. Era verano y en el departamento sólo había un becario que no encontró por ningún sitio aquella isla. Finalmente, telefoneó a su madre, para que lo mirara en la enciclopedia familiar, pero tampoco venía. Al final, tras haberlo echado a cara o cruz, llamó al despacho del director y dijo que se escribía con hache. Al día siguiente, a media mañana, el becario estaba trabajando cuando le telefoneó su madre:

- Hijo, lo de ayer se escribía con hache. Lo he visto en el periódico.

Así son a veces las verdades periodísticas. Y las verdades científicas. Esa noche, cuando me atacó el insomnio, fui a la cocina y herví una cáscara de naranja cuya infusión ingerí sin ningún resultado. Estaba demostrado científicamente, pero a mí, pensé, me habría hecho más efecto que el señor de la radio hubiera asegurado que estaba demostrado poéticamente, por ejemplo.

- ¿Pero esto funciona?

- Sí, sí, está demostrado poéticamente.

Ya comprendo que no es fácil decir algo semejante por la radio. En su defecto, me conformaría con que aseguraran que no ha salido en el periódico.

Juan José Millás,
escritor español

REFORMA: EL ÁNGEL, 26 DE AGOSTO DEL 2001

Recuadro 15.1 Un ejemplo de por qué se debe tener cuidado en considerar sin cortapisas la información de un periódico.

Internet. La red mundial es una fuente inmensa de información. Como no hay prácticamente ningún control de calidad ni supervisión sobre la veracidad, se debe tomar con sumo cuidado al usarse para buscar información científica. La información en Internet no tiene el principio básico que la ciencia usa: el arbitraje.

Por ejemplo, usando alguno de los buscadores disponibles, es posible encontrar información de cualquier tema. Sin embargo, aunque parezca obvio, no todo lo que está en la red es cierto. Se debe ser muy selectivo y cauto con la información de Internet. Como con otras fuentes, es fundamental considerar la fiabilidad con base en criterios como el prestigio del autor o la institución; la ideología o tendencia e intereses comerciales de la fuente y, desde luego, su vigencia. Algunas páginas de Internet son efímeras y lo encontrado hoy, puede no estar mañana. Por otra parte, Internet es una extraordinaria y poderosa herramienta para conseguir información de fuentes primarias. Algunas revistas científicas, cuyo número va creciendo, tienen versiones que pueden ser consultadas, no siempre sin costo, en Internet y es posible hacer revisiones exhaustivas de literatura científica de una forma sencilla a traves de Internet, usando bases de datos.

Se debe considerar, como criterio general, que no necesariamente todo lo publicado es verdadero y casi siempre no es la descripción completa. Algo de ignorancia no es malo, lo grave es la ingenuidad extrema.

Planteamiento del problema

Es muy común en los estudiantes —llenos de entusiasmo— que traten de resolver problemas demasiado complejos. Lo único que lograrán, además de no resolver el problema, es frustrarse. Es frecuente que los estudiantes, en particular los de nivel preuniversitario, planteen proyectos demasiado ambiciosos como "curar el cáncer" o "sustituir el petróleo". Éstos son objetivos de largo plazo en la comunidad científica internacional. Si se plantean como objetivos en un proyecto de investigación en este nivel, es casi seguro que no se cure el cáncer y que no se sustituya el petróleo, sobre todo porque son problemas extraordinariamente complejos, con muchas aristas, no únicamente científicas. Sólo los muy ingenuos podrían pensar que se resolverán con un proyecto de investigación.

Es importante hacerles notar a los estudiantes que como parte del proceso de investigación, es normal y natural que los proyectos vayan reorientándose e incluso ir adecuándose a los objetivos, hipótesis o planteamiento originales, ya que los datos que van surgiendo pueden conducir a cambios en el camino. Resulta fundamental que tanto los alumnos como los profesores comprendan que un resultado negativo, inesperado o adverso a lo esperado originalmente proporciona más información incluso que cuando los datos concuerdan con lo que se pensaba.

La definición del tema de investigación

Éste es quizás el nivel donde la pregunta ¿qué investigar? es más importante y plantea considerables dificultades, sobre todo dada la insuficiente formación científica que tienen muchos profesores del nivel preuniversitario. Pero es donde se generan las propuestas más originales, atrevidas, arriesgadas y ambiciosas, por parte de los estudiantes.

¿Cómo decidir un tema de investigación a este nivel? Esta pregunta no tiene una respuesta única y la creatividad e incluso ingenuidad de los estudiantes, junto con el buen criterio e iniciativa de los profesores, no tienen sustituto.

Como se indicó en el capítulo 5, todo proyecto, independientemente del nivel de los estudiantes, debe ser interesante, original, viable, accesible y debe contar con supervisión. Debe asimismo corresponder a un tema que sea accesible al nivel de conocimientos de los alumnos, porque cuando las dificultades técnicas del pro-

yecto o los tecnicismos del lenguaje utilizado en ese ámbito, no son accesibles para los estudiantes, éstos se desmotivan y no logran aportar ideas al proyecto, ya sea por falta de conocimientos o de comprensión.

El tema puede ser seleccionado de las siguientes maneras:

1. Propuestas de los estudiantes, casi siempre ingenuas y brillantes.
2. Sugerencias del profesor de la materia, basadas en experiencia previa e intuición.
3. Sugerencias de otros profesores. Es muy enriquecedor, por ejemplo, plantear las ideas para posibles proyectos en reuniones de los profesores del área de Ciencias Naturales.
4. Sugerencias de investigadores profesionales. Ellos pueden ser una fuente fiable de temas para hacer investigación, sobre todo porque lo hacen de tiempo completo y tienen experiencia. Podría pensarse que estos investigadores no están interesados, ni tendrían tiempo para proponer y/o dirigir proyectos a nivel preuniversitario; sin embargo, los profesores de ese nivel se sorprenderían de la receptividad que podrían tener de los investigadores profesionales.
5. En varios países de Iberoamérica existen programas destinados a los jóvenes preuniversitarios, para hacer estancias en laboratorios de investigadores establecidos. Buena parte de los investigadores profesionales tienen la experiencia para dirigir y supervisar a estudiantes de nivel preuniversitario y muchos de ellos estarían dispuestos a recibir estudiantes de forma regular. Los investigadores son una fuente muy rica de temas de investigación. Además, también pueden apoyar al desarrollo de la investigación, permitiendo el uso de las instalaciones donde trabajan. Se deben considerar aliados de los profesores del nivel preuniversitario para generar temas de investigación. Con las facilidades que proporciona la Internet, resultará sencillo localizar y contactar a los investigadores o científicos de una determinada localidad.

¿Dónde conseguir información específica sobre temas de investigación?

Normalmente las fuentes primarias de información científica no están disponibles fácilmente y, en general, no son —ni se espera que sean— totalmente comprensibles para los estudiantes del nivel preuniversitario. Sin embargo, es muy importante que los estudiantes tengan contacto con artículos científicos y que el proyecto se base en antecedentes obtenidos de fuentes primarias. Si la limitación llegara a ser el idioma, existen revistas científicas que publican los artículos tanto en inglés como en español (véase un ejemplo en el Apéndice, p. 168). No es aceptable que un proyecto se plantee solamente con base en fuentes secundarias, incluso si son serias y de prestigio. Tampoco es aceptable si se basa solamente en información de enciclopedias o de libros de texto. La razón es que si no hay una fuente primaria de información, entonces se tratará de un proyecto de *indagación* o de una *demostración* de un determinado principio, pero no será propiamente un proyecto de *investigación*.

Si el asesor es un investigador o profesor experimentado en investigación original, será quien provea la información crítica previa, la cual consiste usualmente en algún o algunos artículos científicos, para el planteamiento del proyecto y el desarrollo de la investigación. El asesor será capaz de identificar y proporcionar algunos documentos relevantes sobre el tema, para ser leídos y analizados. Seguramente los estudiantes necesitarán ayuda del asesor para comprender con claridad el contenido de los artículos. Hay que considerar que el investigador profesional revisa la literatura frecuentemente para estar al día. El asesor debe ser capaz de dar a los estudiantes la información más relevante de los antecedentes de su trabajo de investigación. Con la información básica y una buena guía, los estudiantes son capaces de plantear y desarrollar buenos proyectos originales.

Decidiendo el tema específico de investigación

Para decidir un tema específico de investigación es indispensable tener información sobre lo hecho previamente sobre el tema. Si no se cuenta con esta información, resulta imposible establecer la originalidad del proyecto planteado. Para el caso del nivel preuniversitario, es válido que la originalidad sea parcial o de enfoque.

También resulta muy útil conocer proyectos hechos a este nivel, como fuente de inspiración para nuevos proyectos. En varios países de Iberoamérica se desarrollan eventos donde se presentan trabajos hechos por estudiantes de estos niveles (véase, por ejemplo, la "Base de datos de proyectos de investigación del nivel medio y medio superior" de la Academia de Ciencias de Morelos, México <www.acmor.or>). Estos foros son ideales para entrenar y foguear a los estudiantes y le dan al profesor elementos e ideas para nuevos proyectos. Existirán sin duda eventos locales que incluyan estas actividades. Se recomienda ampliamente, tanto a los estudiantes como a los profesores, identificarlos y participar en ellos. La experiencia resultará muy estimulante y enriquecedora.

Aspectos que hay que evitar

Hay algunas cuestiones que deben evitarse al seleccionar un tema de investigación:

– **Temas muy trillados.** Éstos son muy variados, pero casi siempre incluyen los temas grandilocuentes como la cura de algunas enfermedades, la salvación de la humanidad o evitar algun desastre ecológico o los muy gastados como la composta de algún residuo, el reciclaje de basura (sobre todo de plásticos), etc. Desde luego, si la aproximación es original se justifica incluso que el tema haya sido muy frecuentado.
– **Temas de las pseudociencias.** Aquellas que parecen ser ciencia, pero no lo son y que, desafortunadamente, tienen cierto "glamour" entre la población y desde luego entre los estudiantes. Esto incluye la astrología y las "disciplinas" que adjudican propiedades milagrosas a las gemas y a remedios varios. Constituiría, sin embargo, un buen tema de investigación el desenmascarar los planteamientos de las pseudociencias con una rigurosa aplicación de las metodologías de la ciencia.

El proyecto de investigación

En el caso de los estudiantes de nivel preuniversitario, el proyecto tiene el objetivo de convencer a su profesor (o junta de profesores) de que el proyecto vale la pena hacerse y puede hacerse con los recursos, infraestructura y tiempo que los estudiantes de esos niveles tienen a su disposición.

Para los proyectos que se hacen en clase de Ciencias o Metodología de Investigación para estudiantes preuniversitarios, la idea básica (descrita en el capítulo 7) es la misma y sólo se diferencía en el grado de especialización de los temas, la complejidad de las metodologías y los costos involucrados. Por ejemplo, los aspectos de originalidad y de costos no son tan críticos. No quiere decir que los proyectos no sean originales y que no tengan costo alguno. La originalidad es, casi siempre, de enfoque, esto es, se trata de desarrollar un proyecto cuyos resultados y conclusiones pueden ser parcialmente conocidos, pero desarrollados con estrategias experimentales innovadoras o con los recursos y metodologías accesibles. Los proyectos son casi siempre de bajo costo, para poder ser cubiertos por la escuela, el profesor o los estudiantes.

Cronograma de actividades

Comúnmente, a nivel preuniversitario el tiempo disponible está definido por la duración de un curso de ciencias, que puede ser de uno o dos semestres escolares. La definición y preparación del proyecto puede tomar uno o dos meses y el desarrollo experimental del proyecto se reduce de tres a ocho meses. Aquí, el cronograma de actividades debe ser detallado en actividades a realizar en periodos cortos (por ejemplo, por semana). Hay que considerar también el tiempo necesario para el análisis de los datos, lo que puede tomarle al estudiante de dos a seis semanas.

Costos estimados y financiación del proyecto

En el caso de los estudiantes de nivel preuniversitario, en donde el proyecto es financiado por los propios estudiantes o sus familas, es importante que hagan el ejercicio de estimar, aunque sea aproximadamente, los costos que involucrará su proyecto.

Presentaciones audiovisuales

En el caso de encuentros de investigación del nivel preuniversitario, en donde se participa en un formato de "concurso", para los jurados es más fácil ver el conjunto del proyecto en un cartel o "póster" que en una presentación proyectada. El cartel también contribuye a un trabajo más comunitario entre estudiantes. Hay más posibilidades de que los estudiantes se integren y hagan —verdaderamente en equipo— el cartel, que una presentación proyectada. El proceso de hacer el cartel es muy formativo, particularmente cuando se trata del nivel preuniversitario y en trabajos colectivos. Los estudiantes pueden considerar a los carteles como "anticuados" ya que no permiten el uso de la "alta tecnología" disponible hoy en día. Sin embargo, esto no tiene nada que ver con las tecnologías, sino con la moda a la que están expuestos los estudiantes. Siempre el fondo es más importante que la forma.

Lecturas adicionales sugeridas

Arana, Federico, *Método experimental para principiantes*, México, Joaquín Mortiz, 1975. Es un libro de carácter divulgativo que ilustra cómo se puede aplicar el método científico a la vida diaria. Ilustra varios aspectos del trabajo experimental y proporciona ejemplos sencillos sobre trabajos de investigación. Es particularmente útil para estudiantes entre el 7° y 12° grados.

Hernández-Samperi, Roberto; Fernández-Collado, Carlos; Baptista-Lucio, Pilar, *Fundamentos de metodología de la investigación. Bachillerato*, México, McGraw-Hill Interamericana, 2005. Es el único libro disponible en español sobre el tema para nivel bachillerato (9° a 12° grados). Su énfasis es teórico y escrito principalmente para ciencias sociales y económico administrativas.

Van Cleave, Janice, *Proyectos de excelencia para la feria de ciencias*, México, Limusa-Wiley, 2006.

——, *+ de los mejores proyectos para la feria de ciencias*, México, Limusa-Wiley, 2009.

——, *Guía de los mejores proyectos para la feria de ciencias*, México, Limusa-Wiley, 2009.

Esta serie de libros se refiere principalmente a cómo hacer proyectos para una feria de ciencias escolar, quizás la primera experiencia en investigación que tenga un estudiante. Pone énfasis en los aspectos organizativos pero da sugerencias útiles sobre cómo generar el proyecto y presentarlo, tanto en forma audiovisual como escrita y proporciona ejemplos de proyectos específicos.

15. INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL A NIVEL PREUNIVERSITARIO

En el siguiente texto, hay cerca de 15 errores en el citado y listado de las referencias bibliográficas. Identifícalos claramente y corrígelos cuando sea posible.

En la clase de Métodos de Investigación, el profesor nos ha hecho leer referencias de todo tipo, sobre todo para entender el proceso de la generación del conocimiento mediante el llamado "Método Científico" (Pérez-Tamayo, 1998). De un trabajo de Bozzo (sin fecha) nos enteramos de los estereotipos sobre los científicos en el cine. En las películas, casi siempre el científico es un solitario, que hace sus descubrimientos como producto de actos repentinos de inspiración y genialidad. Nada mas alejado de la realidad. Por ejemplo, el desciframiento del genoma humano, una de las aportes más significativos al conocimiento universal (Jasny, Barbara, 2001) fue el resultado de equipos numerosos de científicos trabajando en varias partes del mundo (Pennisi, 2002; Baltimore, 2001). Sin embargo, no hay que olvidar que todo empezó con Galileo (Vaquero, 2003), quien fue el primero en usar la metodología experimental para entender al mundo (Gribbin, 2003). Galileo rompió un paradigma fundamental de la epoca: que para entender al mundo bastaba con leer a los clásicos, como Aristóteles[1]. Los experimentos clásicos de Galileo, como el del plano inclinado, han sido reproducidos por un grupo de estudiantes que crearon el sitio de Internet denominado The Galileo Project (Galileo/Rice University, sin fecha). En ciencia, medir bien las variables que uno está estudianto es fundamental. Un ejemplo sorprendente de la enorme importancia del acto de medir ha sido descrito en un artículo (Müller *et al*, 2006) que publicaron recientemente los académicos de la UAEM que son responsables del proyecto de construcción del Museo de Ciencias de Morelos (México). Otro de los grandes aportes al conocimiento ha sido la teoría de la evolución, postulada por Charles Darwin, la cual ha sido demostrada por una abrumadora cantidad de evidencias (Quammen, 2004). En Morelos (México), la ciencia tiene un excelente nivel. Por ejemplo, hay investigadores que han recibido la más alta distinción que otorga el Estado Mexicano, el *Premio Nacional de Ciencias y Artes*. Recientemente recibió este premio el Dr. Alejandro Alagón, por sus contribuciones al desarrollo de antivenenos contra la picadura de alacrán y de otros animales ponzoñosos (Peralta, O., 2006). Todos los científicos (y estudiantes de carreras científico-tecnológicas) tienen que escribir artículos y documentos en los que se deben citar, en forma cuidadosa y específica, las referencias bibliográficas. Sin embargo, esta tarea casi siempre muestra deficiencias. Para subsanarlas, se recomienda consultar referencias en donde se dan consejos útiles para llevar a cabo esta tarea, como el capítulo de un libro que publicó O'Connor (1991). Para citar referencias provenientes de Internet (las más usadas actualmente por los estudiantes) se recomienda el documento de la *American Psychological Association* (APA, 2001). Hay tres aspectos fundamentales para citar bien referencias: incluir las referencias **completas** (esto es, con todos los datos necesarios para identificarlas/encontrarlas), ser **consistente** con un solo estilo de citado y asegurarse que **todas** las referencias citadas en el texto (y ninguna más) se encuentren en la bibliografía y que en la bibliografía se encuentren **todas** las citadas en el texto (y ninguna más, ni ninguna menos).

Referencias

[1] Moore, P. (2003) Aristóteles, En: E=mc² Las grandes ideas que formaron nuestro mundo, pp. 18-20, Lisma Ediciones S. L. (ISBN 84 95677 37 7).

Baltimore, D. (2001) Nature 409: 814-816, Our genome unveiled (February 15).

Bozzo-Mulet, J. (sin fecha) Tópicos y estereotipos sobre los científicos en el cine, http://100cia.com.divulgacion.topicos_y_estereotipos_sobre_los_cientificos_en_el_cine_460.html.

de Régules, S. (2001) El huevo de Galileo, ¿Cómo ves?, Año 3, No. 36, pp. 22-24.

Galileo/Rice University (sin fecha) The Galileo Project, http://es.rice.edu/ES/humsoc/Galileo (consultado: 7 de marzo de 2006).

Gribbin, John (2003) Historia de la Ciencia 1543-2001, Crítica, S. L. , Barcelona, 552 pgs. (ISBN 84 8432 607 1).

Jasny, B. y Kennedy, D. (2001) Editorial: The human genome, Science 291: 1153 (February 16).

Quammen, D. (2004) Was Darwin wrong?, National Geographic 206(5): 3-35 (November).

Müller, M. et al (2006) Medir para vivir, ¿Cómo ves?, Año 8, No. 87, pp. 16-19.

O'Connor, M. (1991) Storing, choosing and styling references, En: Writing successfully in science, pp. 76, Chapman & Hall, London (ISBN 0 412 44630 8).

Müller, M., Ballesteros, S., Bernal, M. E., Bonilla-Barbosa, J., Escalona, J., González, R. A., Luna, K., Bernal-U., M. I. (2006) Medir para vivir, ¿Cómo ves?, Año 8, No. 87, pp. 16-19.

Pennisi, E. (2001) The human genome, Science 291: 1177-1180 (February 16).

Peralta, O. (2006) El Faro (Boletín informativo de la Coordinación de la Investigación Científica de la UNAM), Año 5, No. 59, Febrero 2, pp. 4-5.

Pérez-Tamayo, R. (1998) ¿Existe el método científico?, Colección La Ciencia para Todos, No. 161, Segunda edición, Fondo de Cultura Económica, México, D.F., 297 pgs. (ISBN 968 16 3451 9).

Vaquero, J. M. (2003) La nueva física Galileo, Colección Científicos para la Historia, Nivola Libro y Ediciones, Tres Cantos, España, 157 pgs. (ISBN 84 95599 74 0).

Texto con errores indicados:

Bozzo-Mulet *y Kennedy*

En la clase de Métodos de Investigación, el profesor nos ha hecho leer referencias de todo tipo, sobre todo para entender el proceso de la generación del conocimiento mediante el llamado "Método Científico" (Pérez-Tamayo, 1998). De un trabajo de Bozzo (sin fecha) nos enteramos de los estereotipos sobre los científicos en el cine. En las películas, casi siempre el científico es un solitario, que hace sus descubrimientos como producto de actos repentinos de inspiración y genialidad. Nada mas alejado de la realidad. Por ejemplo, el desciframiento del genoma humano, una de las aportes más significativos al conocimiento universal (Jasny, Barbara, 2001) fue el resultado de equipos numerosos de científicos trabajando en varias partes del mundo (Pennisi, 2002; Baltimore, 2001). Sin embargo, no hay que olvidar que todo empezó con Galileo (Vaquero, 2003), quien fue el primero en usar la metodología experimental para entender al mundo (Gribbin, 2003). Galileo rompió un paradigma fundamental de la epoca: que para entender al mundo bastaba con leer a los clásicos, como Aristóteles[1]. Los experimentos clásicos de Galileo, como el del plano inclinado, han sido reproducidos por un grupo de estudiantes que crearon el sitio de Internet denominado The Galileo Project (Galileo/Rice University, sin fecha). En ciencia, medir bien las variables que uno está estudianto es fundamental. Un ejemplo sorprendente de la enorme importancia del acto de medir ha sido descrito en un artículo (Müller *et al*, 2006) que publicaron recientemente los académicos de la UAEM que son responsables del proyecto de construcción del Museo de Ciencias de Morelos (México). Otro de los grandes aportes al conocimiento ha sido la teoría de la evolución, postulada por Charles Darwin, la cual ha sido demostrada por una abrumadora cantidad de evidencias (Quammen, 2004). En Morelos (México), la ciencia tiene un excelente nivel. Por ejemplo, hay investigadores que han recibido la más alta distinción que otorga el Estado Mexicano, el *Premio Nacional de Ciencias y Artes*. Recientemente recibió este premio el Dr. Alejandro Alagón, por sus contribuciones al desarrollo de antivenenos contra la picadura de alacrán y de otros animales ponzoñosos (Peralta, O., 2006). Todos los científicos (y estudiantes de carreras científico-tecnológicas) tienen que escribir artículos y documentos en los que se deben citar, en forma cuidadosa y específica, las referencias bibliográficas. Sin embargo, esta tarea casi siempre muestra deficiencias. Para subsanarlas, se recomienda consultar referencias en donde se dan consejos útiles para llevar a cabo esta tarea, como el capítulo de un libro que publicó O'Connor (1991). Para citar referencias provenientes de Internet (las más usadas actualmente por los estudiantes) se recomienda el documento de la *American Psychological Association* (APA, 2001). Hay tres aspectos fundamentales para citar bien referencias: incluir las referencias **completas** (esto es, con todos los datos necesarios para identificarlas/encontrarlas), ser **consistente** con un solo estilo de citado y asegurarse que **todas** las referencias citadas en el texto (y ninguna más) se encuentren en la bibliografía y que en la bibliografía se encuentren **todas** las citadas en el texto (y ninguna más, ni ninguna menos).

No está

Referencias

No es secuencia numérica y poner en orden alfabético

[1] Moore, P. (2003) Aristóteles, En: E=mc² Las grandes ideas que formaron nuestro mundo, pp. 18-20, Lisma Ediciones S. L. (ISBN 84 95677 37 7).

Baltimore, D. (2001) *Nature* 409: 814-816 Our genome unveiled (February 15).

Bozzo-Mulet, J. (sin fecha) Tópicos y estereotipos sobre los científicos en el cine, http://100cia.com.divulgacion.topicos_y_estereotipos_sobre_los_cientificos_en_el_cine_460.html. *Falta fecha de consulta*

No citada

de Régules, S. (2001) El huevo de Galileo, ¿Cómo ves?, Año 3, No. 36, pp. 22-24.

Galileo/Rice University (sin fecha) The Galileo Project, http://es.rice.edu/ES/humsoc/Galileo (consultado: 7 de marzo de 2006).

J.

Gribbin, John (2003) Historia de la Ciencia 1543-2001, Crítica, S. L. , Barcelona, 552 pgs. (ISBN 84 8432 607 1).

Jasny, B. y Kennedy, D. (2001) Editorial: The human genome, *Science* 291: 1153 (February 16).

Orden alfabético erróneo

Quammen, D. (2004) Was Darwin wrong?, *National Geographic* 206(5): 3-35 (November).

Falta página final

Müller, M. et al (2006) Medir para vivir, ¿Cómo ves?, Año 8, No. 87, pp. 16-19.

O'Connor, M. (1991) Storing, choosing and styling references, En: Writing successfully in science, pp. 76, Chapman & Hall, London (ISBN 0 412 44630 8).

Falta citar a TODOS los autores y está repetida.

Müller, M., Ballesteros, S., Bernal, M. E., Bonilla-Barbosa, J., Escalona, J., González, R. A., Luna, K., Bernal-U., M. I. (2006) Medir para vivir, *¿Cómo ves?*, Año 8, No. 87, pp. 16-19.

Debe ser cursiva

Pennisi, E. (2001) The human genome, *Science* 291: 1177-1180 (February 16).

Peralta, O. (2006) *El Faro* (Boletín informativo de la Coordinación de la Investigación Científica de la UNAM), Año 5, No. 59, Febrero 2, pp. 4-5.

Falta título

Pérez-Tamayo, R. (1998) ¿Existe el método científico?, Colección *La Ciencia para Todos*, No. 161, Segunda edición, Fondo de Cultura Económica, México, D.F., 297 pgs. (ISBN 968 16 3451 9).

Vaquero, J. M. (2003) La nueva física Galileo, Colección *Científicos para la Historia*, Nivola Libro y Ediciones, Tres Cantos, España, 157 pgs. (ISBN 84 95599 74 0).

Texto correcto:

En la clase de Métodos de Investigación, el profesor nos ha hecho leer referencias de todo tipo, sobre todo para entender el proceso de la generación del conocimiento mediante el llamado "Método Científico" (Pérez-Tamayo, 1998). De un trabajo de Bozzo (sin fecha) nos enteramos de los estereotipos sobre los científicos en el cine. En las películas, casi siempre el científico es un solitario, que hace sus descubrimientos como producto de actos repentinos de inspiración y genialidad. Nada mas alejado de la realidad. Por ejemplo, el desciframiento del genoma humano, una de las aportes más significativos al conocimiento universal (Jasny, Barbara, 2001) fue el resultado de equipos numerosos de científicos trabajando en varias partes del mundo (Pennisi, 2002; Baltimore, 2001). Sin embargo, no hay que olvidar que todo empezó con Galileo (Vaquero, 2003), quien fue el primero en usar la metodología experimental para entender al mundo (Gribbin, 2003). Galileo rompió un paradigma fundamental de la epoca: que para entender al mundo bastaba con leer a los clásicos, como Aristóteles[1]. Los experimentos clásicos de Galileo, como el del plano inclinado, han sido reproducidos por un grupo de estudiantes que crearon el sitio de Internet denominado The Galileo Project (Galileo/Rice University, sin fecha). En ciencia, medir bien las variables que uno está estudianto es fundamental. Un ejemplo sorprendente de la enorme importancia del acto de medir ha sido descrito en un artículo (Müller *et al*, 2006) que publicaron recientemente los académicos de la UAEM que son responsables del proyecto de construcción del Museo de Ciencias de Morelos (México). Otro de los grandes aportes al conocimiento ha sido la teoría de la evolución, postulada por Charles Darwin, la cual ha sido demostrada por una abrumadora cantidad de evidencias (Quammen, 2004). En Morelos (México), la ciencia tiene un excelente nivel. Por ejemplo, hay investigadores que han recibido la más alta distinción que otorga el Estado Mexicano, el *Premio Nacional de Ciencias y Artes*. Recientemente recibió este premio el Dr. Alejandro Alagón, por sus contribuciones al desarrollo de antivenenos contra la picadura de alacrán y de otros animales ponzoñosos (Peralta, O., 2006). Todos los científicos (y estudiantes de carreras científico-tecnológicas) tienen que escribir artículos y documentos en los que se deben citar, en forma cuidadosa y específica, las referencias bibliográficas. Sin embargo, esta tarea casi siempre muestra deficiencias. Para subsanarlas, se recomienda consultar referencias en donde se dan consejos útiles para llevar a cabo esta tarea, como el capítulo de un libro que publicó O'Connor (1991). Para citar referencias provenientes de Internet (las más usadas actualmente por los estudiantes) se recomienda el documento de la *American Psychological Association* (APA, 2001). Hay tres aspectos fundamentales para citar bien referencias: incluir las referencias **completas** (esto es, con todos los datos necesarios para identificarlas/encontrarlas), ser **consistente** con un solo estilo de citado y asegurarse que **todas** las referencias citadas en el texto (y ninguna más) se encuentren en la bibliografía y que en la bibliografía se encuentren **todas** las citadas en el texto (y ninguna más, ni ninguna menos).

Referencias

APA (2001) Electronic references, American Psychological Association, http://www.apastyle.org/elecref.html (consultado: 7 de Marzo de 2006).

Baltimore, D. (2001) Our genome unveiled, *Nature* 409: 814-816 (February 15).

Bozzo-Mulet, J. (sin fecha) Tópicos y estereotipos sobre los científicos en el cine, http://100cia.com.divulgacion.topicos_y_estereotipos_sobre_los_cientificos_en_el_cine_460.html (consultado: 7 de Marzo de 2006).

Galileo/Rice University (sin fecha) The Galileo Project, http://es.rice.edu/ES/humsoc/Galileo (consultado: 7 de marzo de 2006).

Gribbin, J. (2003) Historia de la Ciencia 1543-2001, Crítica, S. L. , Barcelona, 552 pgs. (ISBN 84 8432 607 1).

Jasny, B. y Kennedy, D. (2001) Editorial: The human genome, *Science* 291: 1153 (February 16).

Moore, P. (2003) Aristóteles, En: E=mc² Las grandes ideas que formaron nuestro mundo, pp. 18-20, Lisma Ediciones S. L. (ISBN 84 95677 37 7).

Müller, M., Ballesteros, S., Bernal, M. E., Bonilla-Barbosa, J., Escalona, J., González, R. A., Luna, K., Bernal-U., M. I. (2006) Medir para vivir, *¿Cómo ves?*, Año 8, No. 87, pp. 16-19.

O'Connor, M. (1991) Storing, choosing and styling references, En: Writing successfully in science, pp. 76-86, Chapman & Hall, London (ISBN 0 412 44630 8).

Pennisi, E. (2001) The human genome, *Science* 291: 1177-1180 (February 16).

Peralta, O. (2006) Venenos y antídotos, *El Faro* (Boletín informativo de la Coordinación de la Investigación Científica de la UNAM), Año 5, No. 59, Febrero 2, pp. 4-5.

Pérez-Tamayo, R. (1998) ¿Existe el método científico?, Colección *La Ciencia para Todos*, No. 161, Segunda edición, Fondo de Cultura Económica, México, D.F., 297 pgs. (ISBN 968 16 3451 9).

Quammen, D. (2004) Was Darwin wrong?, *National Geographic* 206(5): 3-35 (November).

Vaquero, J. M. (2003) La nueva física Galileo, Colección *Científicos para la Historia*, Nivola Libro y Ediciones, Tres Cantos, España, 157 pgs. (ISBN 84 95599 74 0).

PRODUCCIÓN DE GRANA-COCHINILLA (*Dactylopius coccus* Costa) EN PLANTAS DE NOPAL A LA INTEMPERIE Y EN MICROTÚNELES

COCHINEAL (*Dactylopius coccus* Costa) PRODUCTION IN PRICKLY PEAR PLANTS IN THE OPEN AND IN MICROTUNNEL GREENHOUSES

Cristóbal **Aldama-Aguilera**[1], Celina **Llanderal-Cázares**[1], Marcos **Soto-Hernández**[2] y Luis E. **Castillo-Márquez**[3]

[1]Entomología y Acarología. [2]Botánica. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. 56230 Montecillo, Estado de México. [3]Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México. (aldamac@colpos.mx, llcelina@colpos.mx)

Resumen

Para obtener el ácido carmínico como colorante rojo natural, algunos países producen grana-cochinilla a cielo abierto. En México, las condiciones ambientales, los enemigos naturales y los competidores, hacen necesaria su producción en pencas de nopal cortadas y bajo protección, lo que sugiere una desventaja respecto a la producción en otros países. Por esta razón, se infestaron plantas de nopal a cielo abierto y bajo protección en dos tipos de microtúneles. Se evaluó el peso fresco y seco, contenido de ácido carmínico, la duración del ciclo biológico y la presencia de enemigos naturales de la cochinilla, así como la resistencia de la planta de nopal a varios ciclos. El microtúnel con plástico transparente fue el mejor tratamiento para producir grana cochinilla. La planta resistió tres ciclos en el microtúnel con plástico transparente, contra sólo dos en el de lona de rafia. El ciclo biológico se acortó cuando la temperatura aumentó y fue menor dentro de los microtúneles que a cielo abierto. El contenido de ácido carmínico varió de 19.4 a 22.9%. Los enemigos naturales de *Dactylopius coccus* encontrados fueron *Baccha* sp., *Laetilia coccidivora* Comstock, *Hyperaspis trifurcata* Shaeffer, *Sympherobius* sp., además de *Dactylopius opuntiae* Cockerell un competidor de la grana cochinilla.

Palabras clave: *Dactylopius coccus*, *D. opuntiae*, ácido carmínico, enemigos naturales.

Introducción

Las hembras adultas de la grana-cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa) contienen 19 a 24% de ácido carmínico (en peso seco), una sustancia química natural de alta calidad usada como colorante rojo en la industria alimenticia, farmacéutica y cosmetológica (Flores-Flores y Tekelenburg, 1995). La comercialización importante de este insecto terminó en 1875, cuando se introdujeron los colorantes sintéticos (Borror *et al.*, 1989). A inicios de la década de 1970, la demanda de cochinilla aumentó debido a la prohibición de algunos

Recibido: Julio, 2003. Aprobado: Diciembre, 2004.
Publicado como ENSAYO en Agrociencia 39: 161-171. 2005.

Abstract

Some countries produce cochineal in the open in order to obtain carminic acid as a natural red dye. In México, this is done on protected cut cladodes because of the environmental conditions, natural enemies, and competitors. This results in a disadvantage when compared to production in other countries. For this reason, prickly pear plants found in the open and protected in two types of microtunnel greenhouses were infested. Fresh and dry weight, carminic acid content, length of the biological cycle, the presence of natural enemies of the cochineal, as well as the resistance of the plant in various cycles were evaluated. The microtunnel made of transparent plastic was the best treatment to produce cochineal. The plants in this microtunnel resisted three cycles, the ones in the green raffia canvas resisted two cycles. The length of the biological cycle decreased when the temperature increased and was lower in the greenhouses than in the open. The carminic acid content ranged between 19.4 and 22.9%. The predators of *Dactylopius coccus* found were *Baccha* sp., *Laetilia coccidivora* Comstock, *Hyperaspis trifurcate* Shaeffer, *Sympherobius* sp. and the competitor *Dactylopius opuntiae* Cockerell.

Key words: *Dactylopius coccus*, *D. opuntiae*, carminic acid, natural enemies.

Introduction

The adult females of cochineal (*Dactylopius coccus* Costa) contain 19 to 24% carminic acid (in dry weight), a natural chemical substance of high quality used as red coloring in food, pharmaceutical and cosmetic industry (Flores-Flores and Tekelenburg, 1995). The important commercialization of this insect ended in 1875, when synthetic colors were introduced (Borror *et al.*, 1989). At the beginning of the 70s, the demand of cochineal increased due to the prohibition of some artificial chemical colors producing carcinogenic effects, the reason why FAO, OMS, and UNICEF recommend the use of carmine (Condeña, 1997). Owing to this demand, Peru has increased its production six-fold in the last 23 years, until reaching a production of 650 t per

Nota: Más ejemplos se pueden ver libremente en <www.colpos.mx/agrocien/agrociencia.htm>.

AGROCIENCIA, MARZO-ABRIL 2005

colorantes químicos artificiales que producen efectos cancerígenos, por lo que la utilización del carmín está recomendada por la FAO, la OMS y la UNICEF (Condeña, 1997). Debido a esta demanda, Perú ha sextuplicado su producción en los últimos 23 años hasta llegar a producir 650 t por año, que junto con la producción de las Islas Canarias, Chile, Bolivia y Ecuador hacen un total de 850 t por año aunque la demanda es casi el doble de esa cantidad (V. Flores, comunicación personal)[4].

En Perú, la recolección de cochinilla se hace sobre poblaciones silvestres de nopal que crecen en asociación con árboles podados intencionalmente para mantener un microclima y proteger las infestaciones naturales de cochinilla. En Bolivia y Perú, los huertos de *Opuntia* sp. se establecen como cercos vivos alrededor de las casas para protección, y son utilizados para producir cochinilla (Flores-Flores y Tekelenburg, 1995). Condeña (1997) recomienda, para los valles interandinos de la sierra peruana, utilizar los huertos comerciales de fruto con doble propósito, para producir tuna y cochinilla. En México la producción de grana cochinilla se dificulta debido a la existencia de especies de cochinillas silvestres, de enemigos naturales, temperaturas extremas, lluvias fuera de temporada, alta luminosidad y vientos fuertes; por tanto, se requieren ambientes acondicionados para controlar dichos factores, mediante cobertizos, microtúneles o invernaderos y obtener buenas cosechas (Llanderal y Campos, 2001).

En Texas, EEUU. se han observado enemigos naturales de *Dactylopius confusus* Cockerell: *Laetilia coccidivora* Comstock, *Hyperaspis trifurcata* Shaeffer, *Leucopis bellula* Willinston, *Sympherobius barberi* Banks, *Chrysoperla carnea* Stephens, *Nephus timberlakei* Gordon, y *Salpingogaster texana* Curran (Gilreath y Smith, 1988). En Perú y Bolivia se documenta *Allograpta* sp. (Diptera: Syrphidae) como depredador de la cochinilla fina (Flores-Flores y Tekelenburg, 1995); en México, *Baccha* sp., *Chilocorus* sp., *Hemerobius* sp., *Hyperaspis trifurcata*, *Leucopis* sp., *Laetilia coccidivora*, *Sympherobius* sp.; en Argentina *Salambona anallamprella* (Dyar), *Salpingogaster* sp., *Baccha* sp. y *Sympherobius* sp. (Vigueras y Portillo, 2001).

Las temperaturas extremas pueden causar alta mortalidad, sobre todo en ninfas recién emergidas que son las más susceptibles; el granizo causa un daño físico al caer sobre los cuerpos frágiles de las ninfas o adultos; la radiación solar o luminosidad tiene relación estrecha con la temperatura y se recomienda regularla con sombreo en ambientes semicontrolados, a mayor temperatura mayor sombreo (Vigueras y Portillo, 2001). La lluvia puede desprender los insectos del cladodio; el viento

year; together with Canary, Chile, Bolivia, and Ecuador a total of 850 t per year are produced though the demand nearly doubles this quantity (V. Flores, personal communication)[4].

In Perú, cochineal collection is carried out in wild populations of prickly pear plants growing in association with trees intentionally trimmed in order to maintain a microclimate and protect natural cochineal infestation. In Bolivia and Peru, plantations of *Opuntia* sp. are grown as live fences around the houses for protection and utilized to produce cochineal (Flores-Flores and Tekelenburg, 1995). Condeña (1997) recommends, for the inter-Andean valleys of the Peruvian mountains, to utilize the commercial orchards with double purpose: for the production of prickly pear and cochineal. In México, the existence of wild cochineal species, natural enemies, extreme temperatures, rainfalls out of season, high luminosity, and strong winds make cochineal production difficult; therefore, environmental conditioning is required to control these factors by means of sheds, microtunnels or greenhouses to obtain good yields (Llanderal and Campos, 2001).

In Texas, U.S.A., natural enemies of *Dactylopius confusus* Cockerell have been observed: *Laetilia coccidivora* Comstock, *Hyperaspis trifurcata* Shaeffer, *Leucopis hellula* Willinston, *Sympherobius barberi* Banks, *Chrysoperla carnea* Stephens, *Nephus timberlakei* Gordon, and *Salpingogaster texana* Curran (Gilreath and Smith, 1988). In Perú and Bolivia, *Allograpta* sp. (Diptera: Syrphidae) is documented as predator of cochineal (Flores-Flores and Tekelenburg, 1995); in México, *Baccha* sp., *Chilocorus* sp., *Hemerobius* sp., *Hyperaspis trifurcata*, *Leucopis* sp., *Laetilia coccidivora*, *Sympherobius* sp.; and in Argentina *Salambona anallamprella* (Dyar), *Salpingogaster* sp., *Baccha* sp., and *Sympherobius* sp. (Vigueras and Portillo, 2001) are registered.

Extreme temperatures may cause high mortality, above all, in recently emerged nymphs, being the most susceptible; hail stone causes physical damage falling on the fragile bodies of nymphs and adults; solar radiation or luminosity is closely related to temperature, whose regulation by means of shading in semi-controlled environments is recommended, the higher the temperature, the more intense the shading (Vigueras and Portillo, 2001). Rain may wash away the insects from the cladode; wind influences location or transport of the cochineals since it may avoid that the recently emerged nymphs establish on the plants, it can remove insects at final stages of development and prevent the males from fertilizing the females (Méndez *et al*., 1994).

Semi-controlled environment proposed in México corresponds to sheds requiring little investment, built with

[4] Víctor Flores Flores, Profesor emérito. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho, Perú. 2004.

influye en la ubicación o arrastre de las cochinillas, ya que puede evitar que las ninfas recién emergidas se establezcan en los cladodios, puede desprender insectos en etapas finales de desarrollo e impedir que los machos fertilicen las hembras (Méndez *et al.*, 1994).

Un ambiente semicontrolado propuesto en México, corresponde a cobertizos con muy poca inversión, construidos con carrizo, adobe, palma o troncos, piso de tierra apisonada, y pueden o no tener paredes; en este último caso, los cobertizos protegen la grana cochinilla parcialmente de la insolación, alta luminosidad, precipitación y vientos, pero no de los enemigos naturales (Llanderal y Campos, 2001). También se usan microtúneles rústicos con madera o varilla en V o U invertida, sobre la cual se sujeta el material que cubre las pencas infestadas, que puede ser plástico cubierto con otros materiales para dar sombra que regule la temperatura; para sostener las pencas se usan soportes laterales de madera y una red de rafia (Méndez *et al.*, 1994). Campos-Figueroa y Llanderal-Cázares (2003) proponen el uso de invernaderos con techo de dos aguas, paredes de material plástico rígido y semitransparente con ventanas laterales y cenitales abatibles en la parte central y a lo largo del techo para regular la temperatura interior, además de poseer armazones distribuidos en tres niveles para el mantenimiento de las pencas, ya sea colgadas o bien sostenidas mediante una red de rafia .

Por tanto, en este trabajo se plantearon los siguientes objetivos: a) determinar la factibilidad de la producción de grana cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa) sobre nopal en pie a cielo abierto y bajo protección con dos tipos de microtúneles, registrando el peso fresco y seco de hembras por planta; b) evaluar la resistencia de la planta en tres ciclos de producción y su duración en tres temporadas; c) determinar el contenido de ácido carmínico y la calidad de la cochinilla en generaciones sucesivas sobre una misma planta; d) registrar la presencia de enemigos naturales y competidores de la grana cochinilla.

Materiales y Métodos

El presente trabajo se realizó en el Colegio de Postgraduados (C.P.), Montecillo, Estado de México, que se encuentra a 19° 29' N y 98° 54' O, y a 2250 m. Temperatura media anual de 14.6 °C y precipitación media anual de 558.5 mm (datos de la estación agrometeorológica Montecillo).

Se utilizaron pencas de *Opuntia ficus-indica* var. Atlixco de dos años de edad para establecer una plantación de nopal con distancia entre plantas de 0.5 m y 1.5 m entre hileras. La plantación se realizó con grupos de tres pencas, la de la base enterrada hasta la mitad, con orientación norte sur, de manera que sus caras quedaran en posición este-oeste. Además del control de maleza y la aplicación de riegos, también se realizó la poda de formación, que consistió en dejar crecer dos niveles a partir de la penca madre, el primero con dos y el segundo

giant reed, adobe, palm or trunks, tamped earth floor, with or without walls; in the latter case, sheds partly protect the cochineal from insolation, high luminosity, precipitation, and winds, but not from natural enemies (Llanderal and Campos, 2001). Also rustic greenhouses are proposed, constructed with wood or rods in inverted V or U shape, which hold the material in place, covering the infested cladodes, e.g. plastic covered with other materials to provide shade and control the temperature; for sustaining the plants, lateral wooden supports and a raffia net are used (Méndez *et al.*, 1994). Campos-Figueroa and Llanderal-Cázares (2003) suggest the use of greenhouses with saddle roof, walls of semi-transparent rigid plastic, with lateral and zenithal windows in the central part and along the roof, in order to control the inner temperature; besides, they should have frames arranged in three levels for keeping the cladodes either hanging or supported by a raffia net.

In this study the following objectives were considered: a) to determine the feasibility of cochineal (*Dactylopius coccus* Costa) production on prickly pear plants in the open and under protection in two types of greenhouses, recording fresh and dry weight of females per plant; b) to evaluate plant resistance in three production cycles and their length in three seasons; c) to determine carminic acid content and cochineal quality in successive generations on the same plant; d) to register the presence of natural enemies and competitors of cochineal.

Materials and Methods

The present study was carried out at the Colegio de Postgraduados (C.P.) Montecillo, State of México, located at 19° 29' N and 98° 54' W, 2250 m altitude. The annual mean temperature is 14.6 °C and annual mean precipitation 558.5 mm (data of the agro-meteorological station Montecillo).

Two-year-old cladodes of *Opuntia ficus-indica* var. Atlixco were used to establish a plantation of prickly pear plants with 0.5 m distance between plants and 1.5 m between rows. Planting was done with groups of three cladodes, the base one half buried, directed north to south, so that the surfaces of the cladodes were in east-west position. Besides applying weed control and irrigation, corrective pruning was carried out, which consisted in letting grow two levels starting from the mother cladode, the first one with two, and the second with four cladodes; this way, six cladodes per plant were obtained for each infestation; the subsequently grown sprouts were eliminated.

Prickly pear plants were infested in the open and in two types of microtunnels, the first one covered with green raffia canvas and the second with transparent 50 caliber plastic, overlaid by sacks in order to provide shade and reduce inner temperature. The microtunnels were 4.0 m long per 1.1 m wide and 1.2 m high in the central part; 1.5 m-wide ways were made, crossing the tunnels. The structure of the greenhouse was built of 3.5m-long 3/8" rods in inverted U shape burying 25 cm at each end. The rods were covered with orange colored

AGROCIENCIA, MARZO-ABRIL 2005

con cuatro pencas, de manera que se obtuvieron seis pencas por planta para cada infestación; los brotes emitidos posteriormente fueron eliminados.

Se infestaron plantas de nopal a cielo abierto y en dos tipos de microtúneles, el primero cubierto con lona de rafia verde, y el segundo, con plástico transparente calibre 50, cubierto con una capa de costales para provocar sombra y disminuir la temperatura interior. Los microtúneles tenían 4.0 m de longitud por 1.1 m de anchura y 1.2 m de altura en la parte central; se establecieron calles transversales a los microtúneles de 1.5 m. La estructura del microtúnel se hizo con varilla de 3/8" en forma de U invertida de 3.5 m de longitud, y se enterraron 25 cm en cada extremo. Las varillas se cubrieron con poliducto de color anaranjado (1/2" calibre) y se espaciaron cada 2.0 m entre ellas a lo largo del microtúnel. Para sostener la cubierta se colocaron cinco hilos de alambre recocido, uno a cada 40 cm a lo largo de la varilla y cuatro hilos de rafia entre los de alambre recocido, los cuales se sujetaron a estacas ubicadas a los extremos del microtúnel. La cubierta se sujetó con hilos de rafia a la estructura.

El laboratorio de Fisiología de Insectos del Instituto de Fitosanidad del C.P. proporcionó el pie de cría y sólo se emplearon hembras en oviposición. Se introdujeron 10 hembras en oviposición, con un peso promedio de 0.5 g de cochinilla por nido, en bolsitas de tela de tul (3×3 cm). Para la infestación se fijó un nido por penca con espinas de nopal. Se realizó una infestación artificial (agosto de 2001) y dos naturales (una en diciembre de 2001 y otra en abril de 2002).

Los enemigos naturales (depredadores y parasitoides) y competidores (otras especies de *Dactylopius*), se registraron mediante muestreos mensuales, en tres plantas por cada sistema de producción, para contar los individuos identificados mediante las claves de De Lotto (1974), Gordon (1985), Vockeroth y Thompson (1987) y Borror *et al.* (1989).

La temperatura y la humedad relativa se registraron con higrotermógrafos de cuerda (Roosbach) que midieron semanalmente la oscilación de estas variables dentro de los microtúneles. Para el registro y comparación de las oscilaciones de estas dos variables en el exterior, se tomaron datos del mismo periodo procedentes de la estación meteorológica automática Campbell Scientific CR-10, del C.P. en Montecillo.

La cosecha, 15 d después de iniciada la oviposición, consistió en desprender a las hembras de las pencas, usando pinzas elaboradas con flejes doblados, para que cayeran sobre un plástico en el suelo. Las cochinillas se mataron al ponerlas en charolas de unicel, en un congelador a −4 °C durante 24 h. Las charolas se secaron a temperatura ambiente, bajo sombra, durante 25 d. Los insectos secos fueron sacudidos en tamices con aberturas de 2.0, 1.0 y 0.2 mm de diámetro, para clasificarlos en cochinillas de primera, segunda y tercera calidad.

Para el análisis químico de las muestras se empleó el método propuesto por Mora (1996)[5] y modificado por Briseño (2001)[6]. El material seco se preparó para el análisis químico usando un sistema de

plastic hose (1/2" caliber), and a space of 2.0 m was left between them along the tunnel. To hold the covering, five pieces of wire string were fastened every 40 cm along the rod, and four cords of raffia between them, which were fastened to posts at the ends of the tunnel. The cover was attached to the structure with raffia strings.

The laboratory of Fisiología de Insectos del Instituto de Fitosanidad of the C.P. provided the breeding stock for cochineal insects, and only females in oviposition were utilized. Ten females with an average weight of 0.5 g of cochineal per nest were introduced in tulle bags (3×3 cm). For infestation one nest per cladode was fixed to it with the cactus spines. One artificial infestation (August 2001) and two natural ones (in December 2001 and another one in April 2002) were carried out.

Natural enemies (predators and parasitoids) and competitors (other species of *Dactylopius*) were registered through monthly samplings on three plants for each production system, in order to count the identified individuals based on the keys of De Lotto (1974), Gordon (1985), Vockeroth and Thompson (1987) and Borror *et al.* (1989).

Temperature and relative humidity were recorded using cord hygro-thermographs (Rossbach), which weekly measured the fluctuation of these variables inside the greenhouses. For recording and comparing the oscillation of these variables outside, data of the same period were taken from the Campbell Scientific CR-10 automatic meteorological station of the C.P. at Montecillo.

The collection, 15 d after the beginning of oviposition, consisted in removing the females from the cladodes using forceps made with metal bands so that the insects would fall on a plastic sheet on the ground. They were killed introducing them on a Styrofoam® tray into a freezer at −4 °C for 24 h. For drying, the trays were left at room temperature in the shade during 25 d. The dried insects were shaken in sieves with openings of 2.0, 1.0, and 0.2 mm diameter in order to classify the cochineals of first, second and third quality.

For the chemical analysis of the samples, the method proposed by Mora (1996)[5] and modified by Briseño (2001)[6] was employed. The dry material was prepared for chemical analysis using a Soxhlet extraction system; the samples (2 g) were put into constant contact with toluene for 1 h in order to extract fat and waxes from the insect body. Once the fat extracted and the material dried, it was ground to fine particles. Ten milligram of powdered cochineal mixed with 3 mL of HCI 2N were put into a beaker where they were kept boiling for 10 min. The precipitate was assessed at 100 mL with deionized water and filtered; the first 20 mL of the filtrate were poured away, and the following 3 mL were utilized to read the absorbancy of the solution in a spectrophotometer (UV-vis Pye Unicam® model SP8-100) at a wave length of 494 mm (spectrum of maximum carminic acid absorption). The arminic acid content was calculated with the following formula:

$$\% \text{ carminic acid} = (\text{Abs} \times 100) / 1.39$$

[5] Mora I., A. 1996. Extracto rojo de cochinilla: Estudio de las condiciones de extracción y su importancia como colorante natural. Tesis profesional. Facultad de Química, UNAM. México. 47 p.

[6] Briseño G., A. 2001. Contenido de ácido carmínico en la grana cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa) en relación con su edad y fecundación, e influencia de la clasificación y secado. Tesis de Maestría en Ciencias. Instituto de Fitosanidad. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 80 p.

extracción Soxhlet, las muestras (2 g) se pusieron en contacto constante con tolueno durante 1 h, para extraer las grasas y ceras del cuerpo de los insectos. Una vez desengrasado y seco, el material se trituró a partículas finas. En un vaso de precipitados se colocaron 10 mg de cochinilla en polvo, se mezclaron con 3 mL de HCl 2N y se hirvieron 10 min; se aforó a 100 mL con agua desionizada, se filtró; se desecharon los primeros 20 mL del filtrado y se utilizaron los siguientes 3 mL para leer la absorbancia de la solución en un espectrofotómetro (UV-vis Pye Unicam® modelo SP8-100) a una longitud de onda de 494 nm (espectro de máxima absorción del ácido carmínico). El contenido de ácido carmínico se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ ácido carmínico} = (Abs \times 100) / 1.39$$

donde Abs=absorbancia de la solución final; 1.39=absorbancia de una solución de ácido carmínico puro (100 mg L^{-1})

Los tratamientos fueron producción a cielo abierto, producción bajo cubierta de lona de rafia verde, y producción bajo cubierta de plástico transparente, con tres repeticiones por tratamiento en tres ciclos de producción. Se utilizó un diseño completamente al azar y las medias se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Los datos se procesaron usando SAS versión 6.12 (SAS, 1995). Las variables de respuesta fueron el peso fresco y seco (g) de la cochinilla por planta, registrados con una balanza de precisión OHAUS® modelo AS200 (0.01 g de aproximación), el porcentaje de ácido carmínico, duración del ciclo biológico, y clasificación de grana cochinilla seca.

Resultados y Discusión

La temperatura promedio (Cuadro 1) registrada varió según la época del año y fue mayor dentro de los microtúneles que a la intemperie. La temperatura máxima promedio en el microtúnel con cubierta transparente fue superior 1.7 °C respecto a la del microtúnel con lona de rafia y 4.1 °C superior a la registrada a la intemperie; es decir, durante el día, en los microtúneles, la temperatura aumenta respecto a la intemperie. La temperatura mínima promedio a la intemperie fue inferior 1.2 °C respecto a la registrada en el microtúnel con plástico transparente y 3.0 °C inferior a la del microtúnel con lona de rafia; es decir, dentro de este último los insectos estuvieron más protegidos contra bajas temperaturas.

Los ciclos de vida más cortos se registraron en el tercer ciclo de producción (Cuadro 2). La duración del ciclo biológico fue mayor a la intemperie que en los microtúneles, los cuales fueron estadísticamente mejores pero sin diferencia significativa entre ellos. Esta variación se atribuye a las diferencias de temperatura registradas en los diferentes ciclos de producción en las épocas del año, así como en los distintos sistemas de producción (Cuadro 1), Esto concuerda con Méndez (2001) quien explica que a mayor temperatura el ciclo biológico se acorta, pero a temperaturas bajas, se alarga.

where Abs = absorbancy of the final solution; 1.39 = absorbancy of a pure (100 mg L^{-1}) carminic acid solution.

The treatments were: production in the open, production under cover of green raffia canvas, and production under transparent plastic cover, with three repetitions per treatment in three production cycles. A completely randomized design was used and means were compared with the Tukey test ($p \leq 0.05$). The data were processed using SAS version 6.12 (SAS, 1995). The variables of response were: fresh and dry weight (g) of cochineal per plant, determined with an OHAUS® model AS200 precision balance (0.01g of approximation); carminic acid percentage; length of the biological cycle; and classification of dry cochineal.

Results and Discussion

The registered temperature (Table 1) varied according to the time of the year and was higher inside the greenhouse than in the open. The highest mean temperature in the microtunnel with transparent cover was 1.7 °C higher with respect to the greenhouse covered with raffia canvas, and 4 °C higher than that registered in the open; that is, during day time, the temperature in the greenhouses increases with respect to the open. The lowest mean temperature in the open was 1.2 °C lower than that registered in the microtunnel with transparent plastic cover, and 3 °C inferior to that of the greenhouse covered with raffia canvas, which means, inside the latter the insects were more protected against low temperatures.

The shortest life cycles were recorded in the third production cycle (Table 2). The biological cycle was longer in the open than in the greenhouses, which statistically showed better results, but without significant difference among each other. This variation is attributed to the differences in temperature recorded in the different production cycles in the seasons of the year as well as in the different production systems (Table 1). This is in accordance with Méndez (2001), who explains that with higher temperatures the biological cycle gets shorter, and at low temperatures it lasts longer.

The best yield was obtained in the second generation in the microtunnel covered with transparent plastic, with an average of 63.7 g fresh, and 18.8 g dry weight (Table 3). Based on these results, it was estimated that 3.54 kg of fresh cochineal are required to obtain 1 kg of dry weight, which coincides with Méndez (2001), who states that the proportion of fresh weight relative to dry weight may vary from 2.5-3.5 to 1.

In cut hanging cladodes and in one production cycle, Campos-Figueroa and Llanderal-Cázares (2003) report a yield of 7.8 g fresh weight per cladode, which is similar to the average registered in greenhouses in the first production cycle of the present experiment (7.7 g per cladode), but less than the average in production cycle II

AGROCIENCIA, MARZO-ABRIL 2005

Cuadro 1. Temperatura (°C) y humedad relativa (HR %) registradas dentro de los microtúneles y a la intemperie. Agosto de 2001 a julio de 2002.
Table 1. Temperature (°C) and relative humidity (HR %) registered inside the microtunnels and in the open. August 2001 to July 2002.

Sistema de producción	Ciclo	Máxima extrema		Máxima promedio		Promedio		Mínima promedio		Mínima extrema	
		°C	HR%	°C	HR%	°C	HR%	°C	HR%	°C	HR%
Microtúnel con plástico transparente	Ago-Dic	39	100	31.2	96.0	18.5	64.0	5.7	31.9	-3.0	10
	Dic-Abr	40	100	33.6	90.2	18.4	59.5	3.1	28.7	-4.0	12
	Abr-Jul	42	94	35.1	89.8	22.0	60.9	8.9	31.9	2.0	13
Microtúnel con lona de rafia verde	Ago-Dic	35	100	29.3	95.3	18.1	63.7	6.8	32.0	-2.0	11
	Dic-Abr	38	100	32.1	89.1	18.1	58.9	4.1	28.5	-3.5	12
	Abr-Jul	40	94	33.3	90.1	21.9	65.1	10.4	40.0	2.0	19
A cielo abierto (intemperie)	Ago-Dic	33	100	27.4	96.4	15.6	63.8	3.8	31.2	-6.0	4
	Dic-Abr	36	99	29.2	87.5	15.1	57.5	0.9	27.5	-8.0	13
	Abr-Jul	38	94	31.0	88.0	19.3	58.9	7.5	29.8	1.0	12

Cuadro 2. Duración (d) de los ciclos biológicos de *D. coccus* para tres sistemas de producción, de 2001 a 2002.
Table 2. Length (d) of the biological cycles of *D. coccus* for three production systems, from 2001 to 2002.

Sistema de producción	Ciclo I	Ciclo II	Ciclo III
	Agosto-diciembre	Diciembre-abril	Abril-julio
Microtúnel con plástico transparente	118 c	118 c	97 a
Microtúnel con lona de rafia verde	118 c	119 c	98 a
A cielo abierto (intemperie)	128 d	129 d	106 b

a, b, c, d: Medias con letras diferentes en hileras y columnas, son diferentes ($p \leq 0.0001$) ❖ Means with different letters in rows and columns are different ($p \leq 0.0001$).

El mayor rendimiento se obtuvo en la segunda generación en el microtúnel con plástico transparente, con un promedio de 63.7 g peso fresco y 18.8 g peso seco (Cuadro 3). Con estos resultados se calculó que se requieren 3.54 kg de grana cochinilla fresca para obtener 1 kg de grana seca, lo que concuerda con Méndez (2001), quien menciona que la proporción de peso fresco en relación con el peso seco puede variar de 2.5-3.5 a 1.

En penca cortada, colgada y en sólo un ciclo de producción, Campos-Figueroa y Llanderal-Cázares (2003) documentan un rendimiento de 7.8 g en peso fresco por penca, lo cual es similar al promedio registrado en los microtúneles en el primer ciclo de producción del presente experimento (7.7 g por penca), pero inferior al promedio en el ciclo II de producción (10.3 g por penca). Además, Aldama-Aguilera y Llanderal-Cázares (2003) reportan, en un solo ciclo de producción, rendimientos de 8.62 g en pencas colgadas y de 12.27 g en pencas colocadas verticalmente en red de rafia; en este último sistema el rendimiento por penca fue superior al obtenido en el mejor tratamiento de esta investigación.

En la producción a cielo abierto, las cochinillas cosechadas se encontraban protegidas debajo de los nidos de

(10.3 g per cladode). Furthermore, Aldama-Aguilera and Llanderal-Cázares (2003) document in one production cycle, yields of 8.62 g in hanging, and 12.27 g in vertically placed cladodes in raffia net; in the latter system, the yield per cladode was greater than that achieved in the best treatment of this research.

In the production in the open, the cochineal insects collected were protected underneath the tulle nests under the cactus spines, on the lower side of the slightly bent cladodes, or in horizontal position and in places hidden because of the overlapping of two or more cladodes. According to Vigueras and Portillo (2001) and Méndez *et al.* (1994), this insect is susceptible to being washed off by rainfalls, detachment by the wind, frosts, hailstorms, and high luminosity, factors which occurred during this research. Consequently, the yield in the open was less than the amount of cochineal insects utilized for infestation.

The largest amount of first class cochineal insects was obtained in cycle I, in the three production systems, diminishing gradually for cycles II and III (Table 4). Condeña (1997) obtained 73.91, 10.52, 8.06, and 7.51% of first, second, and third class cochineal, and fine dust in 30.5 kg of cochineal in Ayacucho, Perú. First quality

Cuadro 3. Rendimiento (g) de grana cochinilla por planta en tres generaciones sucesivas sobre la misma planta, en tres sistemas de producción, 2001 a 2002.
Table 3. Yield (g) of cochineal per plant in three successive generations on the same plant, in three production systems, from 2001 to 2002.

Sistema de producción	Ciclo I Agosto-diciembre		Ciclo II Diciembre-abril		Ciclo III Abril-julio	
	Peso fresco	Peso seco	Peso fresco	Peso seco	Peso fresco	Peso seco
Microtúnel con plástico transparente	42.5 b	12.0 b	63.7 a	18.8 a	45.9 ab	13.0 b
Microtúnel con lona de rafia verde	49.7 ab	13.0 b	60.2 ab	17.1 ab	4.0 c	1.1 c
A cielo abierto (intemperie)	0.9 c	0.3 c	3.2 c	0.9 c	9.6 c	2.7 c

a, b, c, d: Medias con letras diferentes en hileras y columnas, son diferentes ($p \leq 0.0001$) ❖ Means with different letters in rows and columns are different ($p \leq 0.0001$).

tul, bajo las espinas del nopal, en el lado inferior de pencas ligeramente inclinadas o en posición horizontal y en lugares ocultos por el traslape de dos o más pencas. Según Vigueras y Portillo (2001) y Méndez *et al.* (1994), este insecto es susceptible al lavado por lluvias, desprendimiento por el viento, heladas, granizadas y alta luminosidad, factores presentes durante esta investigación. En consecuencia, el rendimiento a cielo abierto fue menor a la cantidad de cochinilla utilizada para infestar.

La mayor cantidad de grana cochinilla de primera calidad se obtuvo en el ciclo I, en los tres sistemas de producción y disminuyó gradualmente para los ciclos II y III (Cuadro 4). Condeña (1997) obtuvo 73.91, 10.52, 8.06 y 7.51% de cochinilla de primera, segunda, tercera y polvillo, en 30.5 kg de cochinilla en Ayacucho, Perú. La cochinilla de primera calidad representó poco más de 87% del total; por tanto, la producción fue de buena calidad.

El rendimiento en los microtúneles de lona de rafia y de plástico transparente en el ciclo II fue 17.14 y 18.83 g de cochinilla seca por planta (Cuadro 3). La cochinilla de mayor tamaño en este ciclo se obtuvo en los microtúneles con plástico transparente (Cuadro 4), es decir, la población de cochinilla fue mayor en los microtúneles con lona de rafia, probablemente debido a la menor oscilación de la temperatura comparada con los otros dos sistemas, lo que se reflejó en un mayor establecimiento de ninfas. Esto se debe probablemente a un mayor desgaste de las plantas; además, por la competencia intraespecífica, los insectos fueron de menor talla y peso, pero las plantas no resistieron la sobrepoblación de cochinilla después del ciclo II. En ambos microtúneles se interfirió con la incidencia de la radiación solar y, como lo menciona Nobel (1998), la sombra reduce la tasa fotosintética de las cactáceas.

El mayor porcentaje de ácido carmínico se obtuvo en el ciclo II (22.9%; $p \leq 0.001$) en los microtúneles de cochineal represented little more than 87% of the total, so, it can be stated that the production was of good quality.

Yield in the microtunnels with raffia canvas and transparent plastic in cycle II was 17.14 and 18.83 g of dry cochineal per plant (Table 3). Cochineal of the largest size in this cycle was obtained in the greenhouses with transparent plastic cover (Table 4), that is, the cochineal insect population was larger in the greenhouses with raffia canvas, probably owing to less temperature fluctuation compared with the other two systems which was reflected in greater nymph establishment. This was probably due to a greater plant exhaustion; besides, due to intra-specific competition, the insects were of smaller size and less weight, but the plants did not resist the overpopulation of cochineal insects after the second cycle. In both greenhouses, incidence of solar radiation was interfered, and as Nobel (1998) mentions, shade reduces the photosynthesis rate of cactaceae.

The highest percentage of carminic acid was obtained in cycle II (22.9%; $p \leq 0.001$) in the greenhouses of transparent plastic (Table 5); however, in these greenhouses also the lowest percentage was registered (19.4%; $p \leq 0.001$) in cycle I. According to Flores-Flores and Tekelenburg (1995), the Institute of Technological Research and Technical Norms of Peru (ITINTEC) established that carminic acid content of first quality cochineal must be at least 18%, but the Bolivia Exporta Foundation (FBE) established 20% as minimum. In the present study, all the treatments surpassed the limit of 18% and only one did not reach the 20% limit.

The populations of natural enemies of *D. coccus*, found during this research, were more numerous inside the greenhouses than in the open, owing to the quantity of food they find in each production system. Figures 1 and 2 present graphically the population fluctuation of the organisms inside the microtunnels covered with

Cuadro 4. Clasificación de la calidad (%) de la grana cochinilla seca, cosechada en tres generaciones sucesivas sobre la misma planta y con tres sistemas de producción, de 2001 a 2002.

Table 4. Quality classification (%) of dry cochineal, collected in three successive generations on the same plant and with three production systems, from 2001 to 2002.

Sistema de producción	Calidad	Agosto-diciembre	Diciembre-abril	Abril-julio
Microtúnel con plástico transparente	Primera	99.0 a	95.6 bc	92.8 cd
	Segunda	0.4	3.9	4.9
	Tercera	0.3	0.3	1.6
	Polvillo	0.3	0.3	0.7
Microtúnel con lona de rafia verde	Primera	99.1 a	87.3 e	92.3 d
	Segunda	0.4	10.9	4.9
	Tercera	0.3	1.1	2.1
	Polvillo	0.2	0.8	0.7
A cielo abierto (intemperie)	Primera	97.4 ab	96.4 ab	95.3 bcd
	Segunda	1.9	2.5	2.6
	Tercera	0.6	0.8	1.9
	Polvillo	0.1	0.3	0.2

a, b, c, d: Medias con letras diferentes en hileras y columnas, son diferentes ($p \leq 0.0001$) ❖ Means with different letters in rows and columns are different ($p \leq 0.0001$).

plástico transparente (Cuadro 5); sin embargo, en estos microtúneles también se registró el menor porcentaje (19.4%; $p \leq 0.001$) en el ciclo I. De acuerdo con Flores-Flores y Tekelenburg (1995), el Instituto de Investigación Tecnológica y de Normas Técnicas de Perú (ITINTEC) estableció que el contenido de ácido carmínico de la grana cochinilla de primera calidad debe ser 18% como mínimo, pero la Fundación Bolivia Exporta (FBE) estableció como mínimo 20%. En el presente estudio todos los tratamientos superaron el límite de 18% y sólo uno no alcanzó el límite de 20%.

Las poblaciones de enemigos naturales de *D. coccus* encontrados durante esta investigación fueron más altas dentro de los microtúneles que a cielo abierto, debido a la cantidad de alimento que obtienen en cada sistema de producción. En las Figuras 1 y 2 se grafica la fluctuación poblacional de los organismos dentro de los microtúneles de plástico transparente, donde se obtuvieron tres ciclo de producción.

El género *Baccha*, o gusano tambor, fue un depredador presente desde septiembre, y con mayor incidencia

transparent plastic, where three production cycles were obtained.

Genus *Baccha* was a predator present since September and with higher incidence in November (Figure 1). The larva, like most of the diptera, does not have legs, the head is not well-defined, the mouth parts are inconspicuous, and this is the only stage of development, feeding on cochineal insects. At moving from one place to another, the larva leaves a track on the cladode adhering to the surface by a siphon-like adaptation, which grants its survival in the rainy season. Pupation occurs by contraction and eventually hardening of the larval cuticle. The pupa is 5 to 7 mm long and of the coarctate type, that is, the appendices of the body are hidden by the puparium (larval cuticle), which varies from honey color to brown. The adult feeds on pollen and nectar of the flowers, the veins of its wings are reduced. In this species the abdomen is elongate and pedicellate, shaped like a golf club (Vockeroth and Thompson, 1987).

Laetilia coccidivora had low incidence at the beginning, but counting on food without interruption and

Cuadro 5. Contenido (%) de ácido carmínico en *D. coccus* en tres generaciones sucesivas sobre la misma planta en tres sistemas de producción, 2001 a 2002.

Table 5. Carminic acid content (%) in *D. coccus* in three successive generations on the same plant in three production systems, from 2001 to 2002.

Sistema de producción	Ciclo I	Ciclo II	Ciclo III
	Agosto-diciembre	Diciembre-abril	Abril-julio
Microtúnel con plástico transparente	19. 4 b	22.9 a	21.8 ab
Microtúnel con lona de rafia verde	20.0 ab	21.9 ab	20.0 ab
A cielo abierto (intemperie)	21.4 ab	21.1 ab	22.3 ab

a, b, c, d: Medias con letras diferentes en hileras y columnas, son diferentes ($p \leq 0.0001$) ❖ Means with different letters in rows and columns are different ($p \leq 0.0001$).

en noviembre (Figura 1). La larva, como la mayoría de los dípteros, carece de patas, la cabeza no está bien definida, las piezas bucales son inconspicuas y es el único estado de desarrollo que se alimenta de las cochinillas. Al desplazarse, la larva deja sobre la penca un sendero, al adherirse a la superficie por una adaptación como sifón, que le permite sobrevivir en la época de lluvias. La pupación ocurre por la contracción y el eventual endurecimiento de la cutícula larval. La pupa es 5 a 7 mm de longitud y de tipo coartata, es decir, los apéndices del cuerpo están ocultos por la presencia del pupario (cutícula larval), que varía de color miel a café; el adulto se alimenta del polen y néctar de las flores, con alas de venación muy reducida. En esta especie el abdomen es alargado y pedicelado, en forma palo de golf (Vockeroth y Thompson, 1987).

Laetilia coccidivora tuvo una baja incidencia al inicio, pero al contar con alimento sin interrupción y estar protegido en los microtúneles, la población tuvo aumento continuo (Figura 1); por tanto, se considera el enemigo natural más importante de la grana cochinilla. La población más alta de *L. coccidivora* se registró en el tercer ciclo de producción (abril, mayo, junio y julio), con nueve individuos por planta, en promedio. La larva mide 6 a 18 mm de longitud, su color varía de amarillo a verde azulado, con setas en todo el cuerpo. A este insecto se le llama gusano telero porque la larva se cubre con una capa de seda a manera de tela, que ella construye, y se le encuentra entre ésta y la superficie del nopal a lo largo del área donde se alimenta. La pupa mide 12 a 16 mm, de color café oscuro y está cubierta con la tela y con restos de algunas de las víctimas consumidas durante su estado larval. El adulto es una palomilla de color café claro, con manchas oscuras en las alas. La subfamilia Phycitinae se caracteriza por alas anteriores largas y estrechas, y las posteriores son amplias y más cortas (Borror *et al.*, 1989).

La población de la catarinita *Hyperaspis trifurcata*, otro depredador, tuvo aumento continuo en cada ciclo, pero a diferencia del gusano telero y del gusano tambor, tanto la larva como el adulto se alimentan de las cochinillas. Se observó que esta catarinita prefiere alimentarse de la cochinilla silvestre, que competía con la cochinilla fina. La larva es de color rojizo oscuro y está cubierta con pequeñas setas; el abdomen tiene 10 segmentos; la pupa es de color negro, con los apéndices visibles de color rojizo a café. El adulto es negro y presenta en la parte dorsal de los élitros, franjas longitudinales verde amarillentas y llega a medir 2 a 3 mm de longitud. Gordon (1985) señala a *Dactylopius coccus* Costa, *D. confusus* Cockerell, *D. opuntie* Cockerell, *D. tormentosus* Lamarck y *Dactylopius* spp., como presas del género *Hyperaspis*.

Otro depredador detectado fue *Sympherobius* sp., aunque sólo en bajas poblaciones de adultos (Figura 1). Vigueras y Portillo (2001) denominan a este insecto como

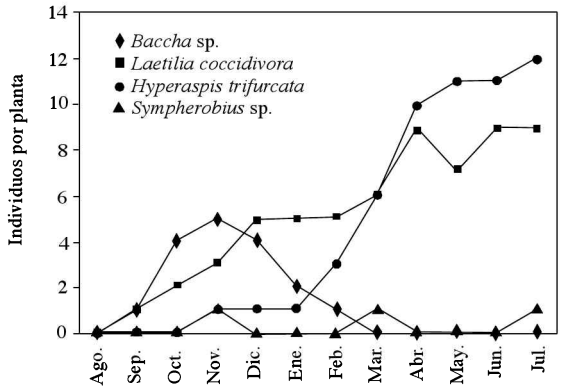


Figura 1. Fluctuación poblacional de los depredadores de la grana cochinilla del nopal en los microtúneles con cubierta de plástico transparente, de 2001 a 2002.

Figure 1. Population fluctuation of the predator of cochineal insects on prickly pear plants in micro-tunnels covered with transparent plastic, from 2001 to 2002.

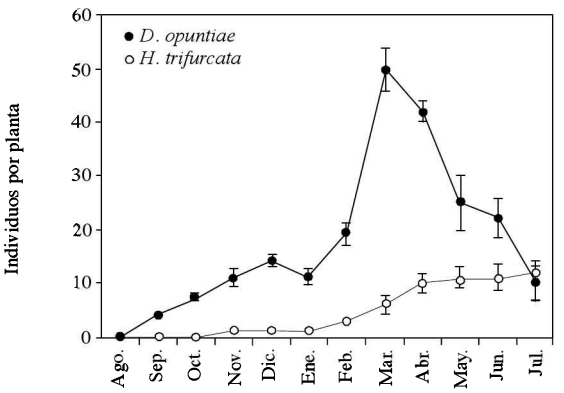


Figura 2. Fluctuación poblacional de *Dactylopius opuntiae* e *Hyperaspis trifurcata* sobre nopal, en los microtúneles con cubierta de plástico transparente, de 2001 a 2002.

Figure 2. Population fluctuation of *Dactylopius opuntiae* and *Hyperaspis trifurcate* on prickly pear plants in microtunnels covered with transparent plastic, from 2001 to 2002.

being protected in the greenhouses, the population increased continuously (Figure 1); therefore, it has been considered the most important natural enemy of cochineal insects. The highest population of *L. coccidivora* was registered in the third production cycle (April, May, June, and July), with nine individuals per plant on the average. The larva is 6-18 mm long, with setae all over its body; its color varies from yellow to bluish green. This insect is called "telero" (clothe-like) because the larva covers itself with a self-generated "silk cape" and stays between the silk cover and the surface of the cactus, along the feeding area. The pupa is 12-16 mm long and dark brown; it is covered with the same material (clothe) and remains

AGROCIENCIA, MARZO-ABRIL 2005

gusano aguja y mencionan que las larvas son difíciles de localizar. Esta especie es muy parecida a las crisopas, pero los adultos son de color marrón en lugar de verdes y son más pequeños; tienen 6 mm de longitud; la venación también es diferente, ya que los crisópidos tienen un sector radial simple, mientras que los hemeróbidos presentan dos a cuatro venas que salen de R_1, aunque la mayoría tiene tres o cuatro venas en el sector radial. Los géneros *Psectra* y *Sympherobius* tienen sólo dos ramas, por lo que se clasifican como una familia diferente: Sympherobiidae (Borror *et al.*, 1989).

La cochinilla silvestre *Dactylopius opuntiae* se presentó como competidor de la cochinilla fina (Figura 2). Aunque en los ciclos I y II su población tuvo aumento constante, en el ciclo III la población bajó debido al aumento en las poblaciones de *H. trifurcata.* Según Vigueras y Portillo (2001) la cochinilla silvestre afecta la planta, ya que inserta sus estiletes para alimentarse, provoca una herida, e inyecta una toxina que causa amarillamiento y debilita a los cladodios. Esto se observó para finales del ciclo II y durante el ciclo III, donde las plantas de los microtúneles de lona de rafia verde prácticamente murieron y en los microtúneles de plástico transparente algunas pencas se desprendieron de las plantas por la alta densidad poblacional de cochinilla fina y de silvestre. Llanderal y Campos (2001) afirman que la cochinilla silvestre puede dominar a la fina cuando se presentan simultáneamente.

Conclusiones

La mayor producción de grana cochinilla se obtuvo en lo microtúneles con cubierta de plástico transparente. La planta de nopal resistió tres ciclos de producción en los microtúneles con cubierta de plástico transparente, mientras que en los microtúneles con lona de rafia verde la resistencia de la planta se redujo a dos ciclos. La duración del ciclo biológico fue menor en el ciclo III, debido a que la temperatura promedio en los meses de abril a julio fue mayor que en los otros ciclos y fue aún más corta dentro de los microtúneles que a cielo abierto. El contenido de ácido carmínico en los insectos fue 19.4 a 22.9%. Las cochinillas secas clasificadas como primera calidad por su tamaño rebasaron 87% del total. Los enemigos naturales de *D. coccus* encontrados fueron los depredadores *Baccha* sp., *Laetilia coccidivora*, *Hyperaspis trifurcata*, *Sympherobius* sp; también estuvo presente *D. opuntiae* como competidor de *D. coccus*.

Literatura Citada

Aldama-Aguilera, C., y C. Llanderal-Cázares. 2003. Grana cochinilla: comparación de métodos de producción en penca cortada. Agrociencia 37: 11-19.

of some of the victims consumed during its larval stage. The adult is a light brown moth with dark spots on its wings. The Phycitinae subfamily is characterized by long and narrow front wings and broad shorter hind wings (Borror *et al.*, 1989).

The population of the ladybug *Hyperaspis trifurcata*, another predator, increased continuously in each cycle, but different from *L. coccidivora* and *Baccha*, the larva as well as the adult feed on cochineal insects. It was observed that this ladybug prefers to feed on wild cochineal which competed with cochineal. The larva is of dark reddish color and covered with small setae; the abdomen has ten segments; the pupa is black with visible appendices of reddish to brown color. The adult is black and presents longitudinal green yellowish stripes on the dorsal part of the elytra and reaches 2 to 3 mm length. Gordon (1985) points out *Dactylopius coccus* Costa, *D. confusus* Cockerell, *D. opuntiae* Cockerell, *D. tormentosus* Lamarck, and *Dactylopius* spp. as preys of genus *Hyperaspis*.

Another predator detected was *Sympherobius* sp. though there were only low populations of adults (Figure 1). Vigueras and Portillo (2001) have called it as "needle" insect because the larvae are difficult to locate. This species is very similar to Chrysopa, but the adults are brown in color instead of green and smaller, they are 6 mm long. The venation is also different, since Chrysopidae have a simple radial sector, whereas Hemerobiidae have two to four veins starting from R_1, though most of them have three to four veins in the radial sector. The genera *Psectra* and *Sympherobius* have only two branches; therefore they are classified as a different family: Sympherobiidae (Borror *et al.*, 1989).

Wild cochineal *Dactylopius opuntiae* appeared as competitor of cochineal (Figure 2). Though in cycles I and II their population increased constantly, in cycle III the population diminished due to the increase of the populations of *H. trifurcate*. According to Vigueras and Portillo (2001), wild cochineal affects the plant, since it inserts its stylets in order to feed, provokes a lesion, and injects a toxin, which causes yellowing and weakens the cladodes. This was observed by the end of cycle II and during cycle III, when the plants of the greenhouses covered with green raffia canvas practically died, and in the greenhouses of transparent plastic some cladodes fell off the plants because of the high population density of fine and wild cochineal. Llanderal and Campos (2001) state that wild cochineal insects can control fine cochineal when they appear simultaneously.

Conclusions

The highest cochineal production was obtained in the microtunnels covered with transparent plastic. In these

Borror, D. J., D. M. DeLong, and N. F. Johnson. 1989. An Introduction to the Study of Insects. 6th Edition. Saunders College Publishing. USA. 875 p.

Campos-Figueroa, M., y C. Llanderal-Cázares. 2003. Producción de grana cochinilla *Dactylopius coccus* (Homoptera: Dactylopidae) en invernadero. Agrociencia 37: 149-155.

Condeña A., F. 1997. Manejo integral de la tuna y cochinilla para los valles interandinos de la sierra peruana. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho, Perú. 66 p.

De Lotto, G. 1974. On the status and identity of the cochineal insects (Homoptera: Coccoidea: Dactylopidae). J. Ent. Soc. Sth. Afr. 37: 167-193.

Flores-Flores V., and A. Tekelenburg. 1995. Dacty (*Dactylopius coccus* Costa) dye production. *In*: Agro-ecology, Cultivation and Uses of Cactus Pear. FAO Plant Production and Protection Paper 132. Rome, Italy. pp: 167-185.

Gilreath, M. E., and J. W. Smith. 1988. Natural enemies of *Dactylopius confusus* (Homoptera: Dactylopidae): Exclusion and subsequent impact on *Opuntia* (Cactaceae). Environ. Entomol. 17: 730-737.

Gordon, R. D. 1985. The Coccinellidae (Coleoptera) of America North of Mexico. J. New York Entomol. Soc. 93: 1-912.

Llanderal C., C., y M. Campos F. 2001. Sistemas de producción de la grana cochinilla. *In*: Producción de Grana Cochinilla. Llanderal C., C. y R. Nieto H. (eds). Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México, México. pp: 61-67.

Méndez G., S. J., G. Aquino P., y J. J. Martínez H. 1994. El cultivo de la Grana Cochinilla en el Altiplano Potosino-Zacatecano. Agroproductividad 2: 7-14.

Méndez G., S. J. 2001. Cultivo y manejo de grana cochinilla. *In*: Producción de Grana Cochinilla. Llanderal C., C., y R. Nieto H. (eds.). Colegio de Postgraduados. Montecillo, Méx., México. pp: 69-77.

Nobel, P. S. 1998. Los Incomparables Agaves y Cactos. Trillas. México. pp: 121-125.

greenhouses, the prickly pear plant resisted three production cycles, whereas in those covered with green raffia canvas plant resistance diminished to two cycles. The lenght of the biological cycle was shorter in cycle III, due to the mean temperature in the months of April to July being higher than in the other cycles, and it was even shorter inside the greenhouses than in the open. The carminic acid content in the insects was 19.4 to 22.9%. Dry cochineal insects, classified as first quality because of their size, surpassed the total by 87%. Natural enemies of *D. coccus* detected were the predators *Baccha* sp., *Laetilia coccidivora, Hyperaspis trifurcata,* and *Sympherobius* sp.; *D. opuntiae* was present as competitor of *D. coccus*.

—End of the English version—

SAS Institute. 1995. SAS/STAT. Guide for Personal Computers. Version 6.12. SAS Institute. Cary, N.C. 1028 p.

Vigueras. G., A. L., y L. Portillo M. 2001. Factores limitantes en el cultivo de la grana cochinilla. *In*: Producción de Grana Cochinilla. Llanderal C., C. y R. Nieto H. (eds). Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México, México. pp: 79-91.

Vockeroth J. R., and F. C. Thompson. 1987. Syrphydae. *In*: Manual of Neartic Diptera. McAlpine J. F., B. V. Peterson, G. E. Shewell, H. J. Teskey, and D. M. Wood (eds). Volume 2, Monograph No. 28. Research Branch, Agriculture Canada. pp: 713-743.

La Jornada
DIRECTORA GENERAL: CARMEN LIRA SAADE
DIRECTOR FUNDADOR: CARLOS PAYAN VELVER
MÉXICO, DISTRITO FEDERAL • AÑO 22 • NÚMERO 7712 • www.jornada.unam.mx • LUNES 16 DE FEBRERO DE 2004
10 PESOS

■ **Desata escándalo una investigación**

Encubren en el Cinvestav anomalías de científicos

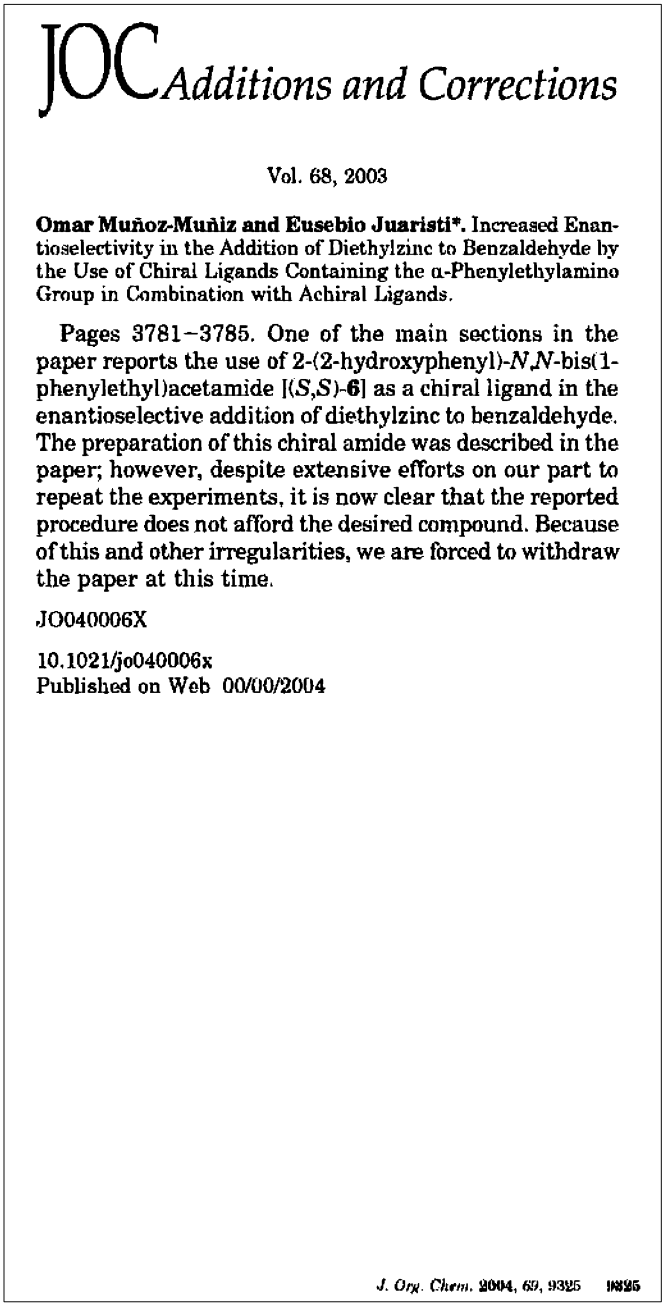
■ El trabajo, dirigido por Juaristi, sirvió para el doctorado de Omar Muñoz y su ingreso al SNI

■ La obra, ''irreproducible''; se retractaron de resultados en tres revistas internacionales

■ El centro depende de los recursos federales y directrices de Educación Pública

■ El Conacyt prefirió no fijar su postura; el caso, en la Comisión de Honor y Justicia

Lo publicado en la portada del periódico



JOC *Additions and Corrections*

Vol. 68, 2003

Omar Muñoz-Muñiz and Eusebio Juaristi*. Increased Enantioselectivity in the Addition of Diethylzinc to Benzaldehyde by the Use of Chiral Ligands Containing the α-Phenylethylamino Group in Combination with Achiral Ligands.

Pages 3781−3785. One of the main sections in the paper reports the use of 2-(2-hydroxyphenyl)-*N*,*N*-bis(1-phenylethyl)acetamide [(*S*,*S*)-**6**] as a chiral ligand in the enantioselective addition of diethylzinc to benzaldehyde. The preparation of this chiral amide was described in the paper; however, despite extensive efforts on our part to repeat the experiments, it is now clear that the reported procedure does not afford the desired compound. Because of this and other irregularities, we are forced to withdraw the paper at this time.

JO040006X

10.1021/jo040006x
Published on Web 00/00/2004

La aclaración publicada por el autor

Reflexión sobre el caso

MILENIO
www.milenio.com
DIARIO

Cómo crucificar a un buen químico

La ciencia por gusto - Martín Bonfil Olivera
15-febrero-06

"Encubren en el Cinvestav anomalías de científicos", informaba antier La Jornada a ocho columnas. ¿Alguna otra vez ha visto usted a la ciencia aparecer en primera plana?

Si este columnista fuera reportero, habría tenido que investigar el asunto y quizá entrevistar a dos o tres personas. Como ésta es una columna de opinión, me limitaré a opinar que me parece injusto el escándalo que algunos medios han armado alrededor del destacado químico mexicano Eusebio Juaristi (a quien, aclaro, no tengo el gusto de conocer).

Fundamentemos la opinión. La historia no es complicada. A lo largo de su trayectoria, el doctor Juaristi, del Centro de Investigación y Estudios Avanzados (Cinvestav) del IPN se ha especializado en la llamada síntesis asimétrica, estereoselectiva o quiral. En otras palabras, se ha especializado en hallar métodos para fabricar las moléculas llamadas quirales (del griego *cheir*, mano), es decir, aquellas que existen en dos versiones: izquierda y derecha, pero buscando la manera de producir sólo una de las dos.

El asunto es importantísimo para la medicina y las industrias alimentaria y farmacéutica, entre otras, pues las moléculas quirales abundan en los sistemas biológicos, donde la diferencia entre la versión izquierda y derecha puede significar la diferencia entre un veneno y un medicamento. Juaristi es un experto internacional en síntesis asimétrica. Su trabajo ha sido reconocido no sólo con diversos premios —entre ellos el de la Organización de Estados Americanos en 1990 y el Nacional de Ciencias en 1998— sino con el respeto y la admiración de sus colegas.

En 2003, según reportan Karina Avilés en La Jornada y Nurit Martínez en *El Universal* (13 de febrero), Juaristi y uno de sus alumnos de doctorado (Omar Muñoz) publicaron en una revista química el reporte de la producción de una sustancia (una amida quiral) que posteriormente usaban para fabricar otras moléculas. Ese mismo año publicaron otros dos artículos en sendas revistas, en los que usaban la misma sustancia.

Lo que ocurrió después pasa de vez en cuando en la investigación científica: se descubrió un error. La reacción para producir la amida quiral no podía repetirse. Ello invalidaba en gran parte los artículos publicados. Debido a esto, Juaristi hizo lo que se supone que debe hacer todo investigador en esa situación: informó del error a las revistas, a sus superiores y a los organismos que lo financiaron.

Resultado: la retractación de los artículos. Como habían sido parte de la tesis de doctorado de Muñoz, una comisión del Cinvestav consideró retirarle el grado de doctor, pero decidió que bastaría con que incluyera una fe de erratas. Y el Sistema Nacional de Investigadores (SNI) está reconsiderando su admisión como miembro.

¿Dónde están los, en palabras de Nurit Martínez, "errores que empañan a la investigación científica"? Los comentarios de ambas reporteras revelan una ignorancia profunda acerca de cómo se lleva a cabo y se evalúa la investigación científica. Yo no sé si haya habido torpeza, descuido, mal control de calidad o incluso un manejo fraudulento en el caso; lo que sí sé es que, una vez descubierto el dato falso o incorrecto, se actuó como lo indican las normas. Inflar el caso presentándolo en primera plana justo el día en que Juaristi fue admitido como miembro de El Colegio Nacional da la impresión de un manejo tendencioso de la nota, impresión que refuerzan algunas frases de los artículos publicados lunes y martes por ambos diarios ("Con indagación fallida consiguen grados, becas y reconocimiento"; "su trayectoria de casi 30 años se ve empañada"; "Visiblemente nervioso, mientras sus ojos se ponían a punto del llanto, Juaristi se quedó mudo").

El Secretario de Educación ha ofrecido indagar el caso, lo cual está muy bien. Pero es injusto crucificar a quien ha sido calificado repetidamente como "quizá el más notable químico mexicano". Tal vez las declaraciones del propio Juaristi ayer martes sean el mejor comentario: "como cualquier actividad humana hay ocasiones en las que se cometen errores, pero lo importante (es que) una vez detectados se puede corregir y reportarlos. Lo realmente incorrecto es ocultar la verdad". Y lo absurdo, añado yo, sería pretender que los científicos nunca se equivocaran.

No se vale. Hay mejores maneras de llevar la ciencia a la primera plana.

Ficha bibliográfica:

ADNC Y FRAGMENTO FAB DEL ANTICUERPO BCF2 Y SU UTILIZACION EN COMPOSICIONES FARMACEUTICAS NEUTRALIZANTES DE VENENO DE ALACRAN.

Número de patente:	MX9701372 (A)
Fecha de publicación:	1998-08-30
Inventor(es):	POSTAY LOURIVAL DOMINGOS POSSA [MX]; LUJAN BALTAZAR BECERRIL [MX]; NAVARRO ALEXEI FEDOROVISH LICE [MX];
Solicitante(s):	UNIV NAC AUTONOMA DE MEXICO [MX];
Clasificación:	
- internacional:	(IPC1-7): C12N15/31;
- europea:	
Número de solicitud:	MX19970001372 19970224
Número(s) de prioridad:	MX19970001372 19970224

Resumen de **MX9701372 (A)**

La presente invencion está relacionado con la obtencion del anticuerpo monoclonal BCF2 y sus fragmentos FAb derivados, con secuencias SEQ ID No. 1 y SEQ ID No.2 en su region variable, que específicamente reconocen y neutralizan la actividad toxica del veneno total y la toxina Cn2 del alacrán Centruroides noxius Hoffmann.

Data supplied from the ***esp@cenet*** database — LP - esp@cenet

Texto de la patente

1

ADNc Y FRAGMENTO Fab DEL ANTICUERPO BCF2 Y SU UTILIZACION EN COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS NEUTRALIZANTES DE VENENO DE ALACRÁN

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención está relacionada con el campo de la obtención y aplicación de anticuerpos monoclonales que reconocen toxinas de alacrán y más particularmente con la generación de las cadenas peptídicas de la región variable de los fragmentos Fab de secuencia SEQ ID No. 1 y SEQ ID No. 2. Específicamente, la invención se relaciona con la obtención de fragmentos Fab de anticuerpos monoclonales capaces de reconocer el veneno del alacrán *Centruroides noxius* Hoffmann, y su aplicación en composiciones farmacéuticas para neutralizar el efecto tóxico del veneno de alacrán.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

El veneno de escorpión es una mezcla compleja de péptidos, los cuales se pueden clasificar en dos grupos con base en el número de aminoácidos: toxinas de cadena larga, de 60-70 aminoácidos, las cuales bloquean los canales de Na^+ de células excitables, y las de cadena corta de 37-39 aminoácidos que afectan los canales de K^+. [1,2,3,4]

Las toxinas que modifican canales de Na^+, a su vez se clasifican como α y β toxinas[5]. Las α-toxinas modifican principalmente el mecanismo de inactivación de los canales de Na^+, mientras que las β-toxinas modifican preferencialmente el mecanismo de activación de los canales de Na^+. [6]

El veneno del alacrán está compuesto por varios péptidos que pueden ser tóxicos a una gran variedad de organismos, algunos lo son para mamíferos, otros para insectos, otros para crustáceos, etc.

Existen aproximadamente 221 especies y subespecies de escorpiones en México, pero sólo ocho son médicamente importantes y son las pertenecientes al género

2

Centruroides, destacando las especies *Centruroides noxius* Hoffmann, *C. limpidus limpidus* y *C. suffusus suffusus*, como algunas de las más peligrosas[7]. De 1981 a 1990 Se han reportado aproximadamente 250,000 casos de picaduras en humanos, con alrededor de 300 muertes[8] por lo que el alacranismo, es considerado un problema de salud pública en México.

Los síntomas posteriores a una picadura de alacrán son entre otros: dolor, tos, hipersensibilidad, hiperexcitabilidad, salivación excesiva y vómito. Cuando se presentan dos o más de los síntomas anteriores se suministra el suero antialacrán, para contrarestar los efectos ya que los casos de envenenamiento severo pueden causar fallas cardíacas y/o pulmonares,[9] lo que puede causar la muerte del individuo picado.

Con el fin de obtener control y prevención para la intoxicación por veneno de alacrán, se han planteado algunas estrategias. Una de elias consiste en la obtención de vacunas adecuadas. A la fecha se han desarrollado vacunas experimentales a través de la detoxificación de péptidos del veneno de alacrán (*Centruroides noxius* Hoffmann, por ejemplo) por medio de su modificación química con glutaraldehído[10], o bien por medio de síntesis química de la estructura polipeptídica primaria correspondiente a toxinas de escorpión[11]. Sin embargo, tales vacunas no han resultado convenientes por las siguientes razones:

a) Es difícil (si no es que imposible), obtener cantidades adecuadas del veneno de interés para preparar cerca de 13 millones de dosis que se requieren de la vacuna en el país[12].

b) El control del material biológico (veneno modificado) para vacunación, es extremadamente difícil de obtener en forma reproducible, para tener la calidad requerida para su uso en humanos.

c) La situación anterior empeora, por el hecho de que los péptidos preparados sintéticamente producen un fenómeno de sensibilización en ratones pre-inmunizados[13].

Otra de las estrategias es el uso de sueros hiperinmunes o anticuerpos monoclonales capaces de neutralizar o retardar el efecto tóxico, de las toxinas de

alacrán (seroterapia). En este sentido, se han realizado estudios de seroterapia con anticuerpos policlonales[14] y monoclonales[15]; asimismo, existen en el mercado sueros hiperinmunes de caballo anti-alacrán comercialmente disponibles (por ejemplo, el elaborado por el Instituto Nacional de Higiene de la Secretaría de Salud, México). Sin embargo, estos sueros son elaborados en caballos, que a su vez son inmunizados con un macerado del telson de alacranes. Una vez que se tiene este macerado, se centrifuga y con la parte soluble se inocula al caballo. Este procedimiento se realiza con el macerado de una mezcla de telsones de varias especies de alacranes, como son *C. noxius, C. limpidus limpidus* y *C. suffusus suffusus* (en México).

Después de varias inmunizaciones, se obtiene el suero de caballo y se lleva a cabo una purificación de las inmunoglobulinas totales del equino, posteriormente se realiza una digestión de los anticuerpos con tripsina para obtener los fragmentos de las inmunoglobulinas $F(ab')_2$ los encargados de neutralizar el veneno.

La preparación anterior presenta la desventaja de contener una mezcla de anticuerpos muy variada, ya que como se mencionó antes, el veneno de los alacranes está compuesto por decenas de péptidos de los cuales sólo unos pocos presentan actividad contra mamíferos (principalmente las toxinas Cn13 y Cn2, en el caso de *Centruroides noxius* Hoffmann). De tal manera que los anticuerpos dirigidos contra estas toxinas se encuentran en una proporción muy pequeña respecto de la proteína total es decir, es necesario aplicar una dosis elevada de la preparación para poder neutralizar el efecto de las toxinas, dado que se trata de una gran cantidad de proteína exógena, se incrementa el riesgo de provocar un choque anafiláctico en pacientes, y con mayor posibilidad de provocar este efecto secundario a quienes se les aplica en más de una ocasión esta preparación neutralizante.

Por lo anterior, hay una necesidad de remover las inmunoglobulinas no asociadas al efecto neutralizante de estos sueros, ya que su administración puede producir una respuesta inmune indeseable (autoinmunidad cruzada, por ejemplo), inducir

nefrotoxicidad, enfermedad de suero y en casos graves choque anafiláctico. Adicionalmente, el suero hiperinmune anti-alacrán, contiene otras proteínas, lípidos y carbohidratos, que potencialmente pueden provocar una respuesta inmune, pero el peligro mayor radica en que estos componentes pueden albergar patógenos, tales como el agente que causa la Encefalopatía espongiforme bovina o bien otros que puedan causar zoonosis. Asimismo, pueden estar presentes endotoxinas, moléculas capaces de producir respuestas pirogénicas, potencialmente fatales.

Otros inconvenientes en el caso del uso de anticuerpos monoclonales pueden ser la presencia de contaminantes en los medios de cultivo, que contienen los anticuerpos expresados por un hibridoma de interés, tales como células o ácidos nucléicos. Así como los agregados de anticuerpos también pueden actuar como inmunógenos y causar una respuesta inmune indeseable en el organismo bajo terapia.

Aunado a los inconvenientes que presentan las vacunas actuales y hasta que los péptidos más adecuados y seguros para vacunación no sean determinados, la alternativa más viable de mayor pureza, al menos en el corto plazo, para la protección de picaduras de alacrán, es el uso de antisueros anti-alacrán.

Por otra parte, independientemente de que se logren vacunas adecuadas para la prevención de la intoxicación por veneno de alacrán, existirá constantemente la necesidad de contar con un reactivo efectivo (antisuero anti-alacrán o anticuerpos purificados anti-alacrán) para administración en individuos no vacunados o intoxicados, que esté disponible para su uso inmediato en el campo, ya que el tiempo en que el veneno surte su efecto tóxico, hasta provocar la muerte en el organismo afectado es muy corto (0.33 hrs. en ratones)[19].

Por tal motivo, existe el interés de obtener reactivos biológicos, tales como antisueros anti-alacrán o anticuerpos purificados anti-alacrán adecuados para administración inmediata con el fin de neutralizar la actividad tóxica del veneno de alacrán en individuos afectados.

Hasta antes de la presente invención, no se conocía en la literatura anticuerpos

monoclonales y sus correspondientes fragmentos Fab que mostraran protección *in vivo*, no solamente contra la actividad tóxica de toxinas específicas de alacrán, sino tampoco contra la actividad tóxica del veneno total de alacrán.

Los anticuerpos del tipo de las inmunoglobulinas, particularmente las del tipo G, están constituidas por cuatro cadenas péptidicas, dos pesadas y dos ligeras, unidas entre sí por puentes de azufre. Las inmunoglobulinas G pueden fragmentarse por acción de las enzimas papaina, pepsina en 2 ó 3 moléculas activas: el fragmento denominado Fc que tiene una función asociada a la introducción de la inmunoglobulina a la placenta y a la lisis celular del organismo invasor; los otros dos fragmentos pueden ser los llamadas fragmentos Fab, o bien el llamado fragmento $F(ab')_2$ que son cadenas polipéptidicas variables y que, aún después de haberse unido a un antígeno no precipitan.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS.

Figura 1.

Experimentos de neutralización con el anticuerpo monoclonal BCF2 y su fragmento Fab. Esta representación gráfica, muestra los valores DP_{50} (dosis protectora media) definidos como la cantidad de anticuerpo monoclonal necesario para proteger al 50% de los ratones expuestos a las dosis indicadas de toxina o veneno completo. Para cada uno de los puntos de las curvas de neutralización se usaron 6 ratones hembra (20 g de peso). Las líneas continuas se refieren a resultados experimentales, mientras que las líneas segmentadas muestran la regresión lineal calculada para cada curva.

Panel A. Cantidades crecientes del veneno total de *C. noxius* Hoffmann y el anticuerpo monoclonal BCF2, que fueron mezcladas para determinar la DP_{50} de cada punto.

Panel B. Cantidades crecientes del veneno total de *C. noxius* Hoffmann y el fragmento Fab del anticuerpo monoclonal BCF2, que fueron mezcladas para determinar la DP_{50} correspondiente de cada punto.

Panel C. Sobrelapamiento de los paneles A y B.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN.

La presente invención está dirigida a fragmentos Fab de secuencia de la fracción variable SEQ ID No. 1 y SEQ ID No. 2 o fragmentos equivalentes del mismo con capacidad para neutralizar el veneno total y toxina Cn2 del veneno del alacrán *Centruroides noxius* Hoffmann.

El término "fragmento equivalente del mismo" según se utiliza en el contexto de esta descripción, significa que una molécula particular puede variar, con respecto a la molécula de referencia (fragmento Fab), de tal forma que conserva la actividad neutralizante del fragmento Fab contra el veneno total o contra toxinas del veneno del alacrán *Centruroides noxius* Hoffmann. Esto también significa que dentro de las variaciones contempladas, pueden incluirse variaciones por una o más sustituciones, omisiones o adiciones, en la estructura o secuencia de aminoácidos del fragmento Fab, cuyo efecto inmediato es retener la actividad neutralizante del fragmento Fab.

El fragmento Fab (fragmento de unión al antígeno ó **F**ragment **a**ntigen **b**inding) es un fragmento protéico de un anticuerpo que tiene la característica de retener la actividad de unión al antígeno, ya que dicho fragmento comprende los dominios variables de cada par de cadena ligera y pesada que forman el sitio de fijación al antígeno, propiedad inherente del anticuerpo completo. Sin embargo, el fragmento pierde por completo la actividad asociada a la fracción constante o Fc, responsable de fijar los receptores Fc de células y de también activar el complemento. Mediante tratamiento enzimático del anticuerpo completo de interés con enzimas tales como papaína, tripsina o pepsina se generan fragmentos de anticuerpo, que incluyen los fragmentos Fab y $F(ab')_2$ correspondientemente. Al igual que el fragmento Fab, el fragmento $F(ab')_2$ retiene la actividad de unión al antígeno. El tratamiento de anticuerpos capaces de neutralizar el veneno total o toxinas del veneno del alacrán *Centruroides noxius* Hoffmann, genera los

fragmentos de la presente invención. Tales fragmentos son especialmente útiles en las aplicaciones terapéuticas de esta invención.

Los expertos en este campo observarán que la región de unión al antígeno de los fragmentos de anticuerpo neutralizante es la característica clave de la invención. Las células de hibridomas productoras de anticuerpos monoclonales neutralizantes, sirven como fuente preferida de ADN de SEQ ID No. 3 y SEQ ID No. 4 que codifica las regiones de unión al antígeno de la invención. Este ADN mediante tecnología de ADN recombinante, puede ser unido a un ADN que codifica cualquier secuencia deseada de residuos de aminoácidos para formar una nueva secuencia de ADN híbrida o quimérica, que codifique una proteína híbrida o quimérica, que a su vez retenga la capacidad neutralizante.

En consecuencia, un fragmento Fab o fragmento equivalente del mismo de la presente invención puede ser derivado de un anticuerpo monoclonal neutralizante obtenido de un hibridoma de murino, de rata y/o de humano, en donde las secuencias de aminoácidos de las cadenas pesada y ligera del sitio de enlace al antígeno son homólogas con aquellas secuencias de anticuerpo producido por las especies de linfocitos *in vivo* ó *in vitro* a través de hibridomas.

No obstante, esta invención también comprende cualquier molécula quimérica que contenga una región de unión al veneno total o contra toxinas del veneno del alacrán *Centruroides noxius* Hoffmann y con capacidad neutralizante. Preferiblemente el fragmento Fab de esta invención es un fragmento alterado como un fragmento híbrido en el cual las cadenas pesada y ligera del sitio de enlace al antígeno son homólogas a un anticuerpo natural pero que están combinadas de manera que no ocurren naturalmente. El fragmento Fab puede ser un fragmento Fab quimérico que tenga regiones variables de un anticuerpo y regiones constantes de otro. De esta manera, los fragmentos Fab quiméricos pueden ser una quimera especie/especie o una quimera clase/clase. Los fragmentos Fab quiméricos pueden tener una o más modificaciones para mejorar la habilidad de fijación al antígeno o para alterar el funcionamiento tóxico del veneno de alacrán. Otra forma de fragmento Fab alterado es un fragmento

humanizado en el cual los CDRs del anticuerpo BCF2 son injertados en un marco de secuencia de aminoácidos humana. Se pueden alterar aminoácidos adicionales a la estructura o regiones constantes de tales fragmentos. De este modo se incluye en el alcance de la presente invención cualquier fragmento Fab neutralizante del veneno del alacrán en el cual la secuencia de aminoácido no existe o una que exista en cualquier parte.

Se pueden alterar aminoácidos adicionales a la estructura o regiones constantes de tales fragmentos. De este modo se incluye en el alcance de la presente invención cualquier fragmento Fab neutralizante del veneno del alacrán en el cual la secuencia de aminoácidos no existe o una que exista en cualquier parte.

Las características de uno de los fragmentos Fab (proveniente del anticuerpo monoclonal BCF2 y de la línea de células de hibridoma BCF2[19]) de la invención, incluyen la característica general de los fragmentos de la invención, que es la capacidad de neutralizar la acción tóxica del veneno total o de toxinas del veneno del alacrán *Centruroides noxius* Hoffmann. Las características específicas del fragmento Fab neutralizante, proveniente del anticuerpo monoclonal BCF2 y de la línea de células de hibridoma BCF2[19], incluyen:

a) Peso molecular aproximado de 50,000.

b) Subclase IgG_1 para la cadena pesada y kappa (κ) para la cadena ligera (ensayo comercial ELISA-BioRad).

c) Capacidad de reconocer y neutralizar la toxina Cn2 pura de *C. noxius* Hoffmann.

d) Capaz de neutralizar *in vivo* dosis de 43 DL_{50} del veneno total soluble de *C. noxius* Hoffmann con 1 miligramo de Fab en la cepa de ratón CD1 (1 miligramo del anticuerpo monoclonal BCF2 neutraliza *in vivo* dosis de 28 DL_{50} del veneno total soluble de *C. noxius* Hoffmann).

e) 124 micromoles de Fab neutralizan *in vivo* 1 miligramo del veneno total soluble de *C. noxius* Hoffmann.

f) La cantidad de Fab requerido para neutralizar varias DL_{50} del veneno total soluble de *C. noxius* Hoffmann es 9 veces menor que la cantidad necesaria de

suero hiperinmune comercial de caballo para neutralizar las mismas DL_{50}.

La utilidad terapéutica del fragmento Fab neutralizante, proveniente del anticuerpo monoclonal BCF2 y de la línea de células de hibridoma BCF2[19], ha sido establecida en los ensayos de neutralización *in vivo* del Ejemplo no. 6 donde se muestran detalles del ensayo.

Los expertos en este campo observarán, que la capacidad de neutralizar la acción tóxica del veneno total o de toxinas del veneno del alacrán *Centruroides noxius Hoffmann*, es una característica general de los fragmentos Fab o fragmentos equivalentes del mismo de esta invención y que fragmentos Fab neutralizantes, diferentes de los producidos por la línea de células de hibridoma BCF2[19] también funcionarán neutralizando la actividad tóxica del veneno mencionado anteriormente. En este sentido, dentro del alcance de la presente invención, se incluyen las variaciones de afinidad de los fragmentos Fab de la invención que neutralizan el veneno total o toxinas del veneno del alacrán *Centruroides noxius* Hoffmann ya que en general, mientras mayor sea la afinidad del anticuerpo, más eficaz será para neutralizar el efecto tóxico. En relación a lo anterior, dado que el éxito terapéutico y/o farmacológico de infinidad de anticuerpos radica en la afinidad de éstos hacia su sitio de unión, es posible determinar las zonas del fragmento Fab de la presente invención involucradas en dicha afinidad mediante modificaciones en tales zonas, las cuales pueden incluir regiones que determinan la complementaridad de los sitios de unión del anticuerpo (CDR's)[16],[17],[18] cambios en las cadenas pesadas de los dominios variables del sitio de enlace al antígeno[19], u otras más. Con ésto, la afinidad de los fragmentos Fab de la presente invención, podrá aumentarse, obteniéndose con ello efectos farmacológicos incrementados, tales como una mayor neutralización del efecto tóxico, del veneno total del alacrán.

Los fragmentos Fab de esta invención, tienen la ventaja de poder utilizarse, en terapia médica en cantidades aproximadamente 10 veces menores a las requeridas por sueros comerciales, para neutralizar el efecto tóxico del veneno de alacrán; asimismo, la cantidad total de proteína administrada al individuo afectado

será menor (en la misma proporción), lo cual reduce los efectos potencialmente adversos de los sueros comerciales (autoinmunidad cruzada, altos riesgos de intoxicación, etc.).

Se incluye también en la presente invención, una preparación purificada de fragmentos Fab o fragmentos equivalentes del mismo. Dicha preparación está sustancialmente libre de contaminantes de células huésped, de proteínas de dichas células, ácidos nucléicos y endotoxinas. Los niveles de endotoxina se puede medir mediante el método LAL (Limulus Amoebocyte Lysate)[20]. Tal como se ha expuesto anteriormente, la eliminación de sustancias indeseables en dichas preparaciones, reduce la posibilidad de aparición de efectos adversos en individuos después de su administración.

También se incluyen en la presente invención formulaciones o composiciones que contengan fragmentos Fab o fragmentos equivalentes. Estas composiciones incluyen, preferentemente además de fragmentos Fab (substancialmente purificadas y/o libres de contaminantes): un diluyente o portador fisiológicamente aceptable, en mezcla con otros agentes como anticuerpos y/o antibióticos. Algunos de los portadores que pueden ser adecuados incluyen, pero no están limitados: solución salina fisiológica, solución salina amortiguada de fosfato, glucosa en solución salina amortiguada de fosfato y/o solución salina amortiguadora. Alternativamente, el fragmento Fab o las combinaciones anteriormente mencionadas, se pueden liofilizar (secar por congelación) y reconstituir para usarse cuando se requiera, mediante la adición de una solución amortiguada acuosa o bien agua simplemente. Las vías de administración de tales composiciones son rutinariamente parenterales, incluyendo inyección o liberación intravenosa, intramuscular, subcutánea e intraperitoneal.

El término purificado, según se utiliza en el contexto de esta descripción para definir la pureza de los fragmentos Fab, significa que la proteína o la preparación de la proteína está substancialmente libre de otras proteínas de origen natural o endógeno. Sin embargo, dichas composiciones pueden contener otras proteínas agregadas como estabilizantes, portadores, excipientes y co-terapéuticos.

Esta invención también está dirigida a un método de obtención de fragmentos Fab o fragmentos equivalentes del mismo de la presente invención.

Líneas de células de hibridoma productoras de anticuerpos monoclonales neutralizantes de la actividad tóxica del veneno total o toxinas del veneno del alacrán *Centruroides noxius* Hoffmann, pueden prepararse utilizando como material inmunogénico toxinas del mismo, como Cn2[19] purificadas, para la activación de células de bazo inmunológicamente relevantes del animal inmunizado. Con el fin de mejorar la respuesta inmune del animal, la toxina puede ser ligada a una macromolécula que funcione como acarreador del péptido. Por ejemplo, el péptido puede ser conjugado a una proteína tal como tiroglobulina porcina. Otros acarreadores pueden ser utilizados dentro del alcance de la presente invención, incluyendo a aquellos conocidos en el estado de la técnica, tal como seroalbúmina humana y bovina, mioglobinas, ß-galactosidasa, penicilinasa y toxoides bacterianos. Los acarreadores pueden ser también moléculas sintéticas como multi-poli-DL-alanil-poli-L-lisina y poli-L-lisina.

El inmunógeno puede ser administrado ya sea solo o conjugado. El péptido puede ser administrado por métodos convencionales como inyección subcutánea, inyección intramuscular y flujo intravenoso; así como administración transdérmica u oral. Es particularmente preferible usar un régimen posológico en el que una administración inicial del péptido es seguida por una o más administraciones de refuerzo del mismo péptido a intervalos regulares de tiempo.

Los pasos posteriores para la preparación de los anticuerpos monoclonales neutralizantes, incluyen: remover el bazo de los animales inmunizados con la toxina Cn2 de *Centruroides noxius* Hoffmann preparar suspensiones de linfocitos, fusionar estos linfocitos a células de mieloma de ratón, cultivar las células y colectar los sobrenadantes de los hibridomas sobrevivientes para la búsqueda de anticuerpos por ELISA. Aquellos hibridomas que producen los anticuerpos deseados (como por ejemplo el hibridoma BCF2) son posteriormente subclonados e inyectados en ratones para producir líquido de ascitis.

Los anticuerpos monoclonales son entonces purificados colectando el líquido de ascitis de la cavidad peritoneal de los ratones y la inmunoglobulina (Ig), la cual se purifica ya sea por precipitación con sulfato de amonio, con (dietil-amino-etil)-celulosa en

cromatografía de intercambio iónico o preferentemente por una columna de afinidad de proteína A en presencia de una fuerza iónica alta.

La proteína A (sintetizada por algunas cepas de *Staphylococcus aureus*) es un ligante específico de grupos que se fija a la región Fc de la mayor parte de IgG.

Un método alternativo es el usar la bacteria completa de una cepa bacteriana que posea grandes cantidades de proteína en la superficie celular. Una alternativa a la proteína A es la proteína G.

Las muestras de inmunoglobulina así purificadas contienen los anticuerpos monoclonales deseados, los cuales pueden ser identificados por un ELISA.

La habilidad de los anticuerpos para neutralizar a la toxina Cn2 es ensayada mediante la incubación por 30 minutos de 650 microgramos de cada anticuerpo con 12 DL_{50} (3 microgramos) de la toxina Cn2 y posteriormente son inyectados a grupos de cinco ratones y se monitorea su tiempo de sobrevivencia. Para el caso del anticuerpo monoclonal denominado BCF2, se encontró que hay un aumento de sobrevivencia de 0.33 a 60 hrs. con estas dosis.

Adicionalmente, los anticuerpos monoclonales así obtenidos, son utilizados para evaluar a través de ensayos, su capacidad para neutralizar la fracción soluble del veneno total del alacrán *Centruroides noxius* Hoffmann. Para ello se determinó *de novo* la DL_{50}, tanto de la fracción soluble del veneno total del alacrán *C. noxius* Hoffmann, como de la toxina Cn2 aislada del mismo, como se indica en la metodología, encontrándose de 3.8 microgramos y 250 nanogramos por cada 20 gramos de peso de ratón, respectivamente. Se incuban 3 veces la DL_{50} (11.4 microgramos) de la fracción soluble del veneno total del alacrán con los anticuerpos en una relación molar 1:10, durante 30 minutos en un volumen total de 200 microlitros de una solución PBS inyectando a un grupo de ratones y monitoreando su tiempo de sobrevivencia.

Posteriormente, los fragmentos Fab y fragmentos equivalentes del mismo de la presente invención, son generados mediante el tratamiento enzimático de los anticuerpos BCF2, ya sea con tripsina para obtener los fragmentos $F(ab')_2$ o con papaína para obtener, tras una purificación, a través de una columna de proteína

A, los correspondientes fragmentos Fab, cuya actividad para neutralizar la toxina Cn2 se demuestra mediante, un ELISA.

Los fragmentos Fab así obtenidos, son probados para determinar su capacidad de neutralizar la fracción soluble del veneno total del alacrán *Centruroides noxius* Hoffmann de la misma forma en que se probaron los anticuerpos completos, sustituyendo éstos en el ensayo por los fragmentos Fab correspondientes.

Con el fin de eliminar algunos contaminantes indeseables presentes en la preparación de fragmentos Fab final, se pueden agregar pasos adicionales al procedimiento de purificación expuesto anteriormente. Se puede utilizar la ultrafiltración para reducir la contaminación viral y de ácido nucléico de células. Esto se puede realizar utilizando unidades de ultrafiltración que permitan retener el fragmento Fab de interés. Existen unidades de filtración comercialmente disponibles (Millipore). Un método alternativo para reducir la contaminación de virus es la microfiltración que emplea una membrana de Nylon en forma de cartucho, por ejemplo, membrana Nylon 66 con 0.04 molar de PALL. Así mismo se puede introducir un paso de purificación para remover el ADN contaminante, por ejemplo, a través de un lavado de la columna de Proteína A utilizando NaCl en el rango de 1-3 molar en el amortiguador con pH neutral, de preferencia PBS con pH 7.2. Se puede agregar glicina al NaCl de preferencia a 1.5 molar en el rango de pH de 8.8-9.0.

Esta invención también se refiere al uso de los fragmentos Fab o fragmentos equivalentes del mismo anteriormente mencionados, para la fabricación de un medicamento para neutralizar el efecto de la picadura del alacrán *Centruroides noxius* Hoffmann en el organismo de un mamífero afectado.

Los fragmentos Fab de esta invención son especialmente útiles para neutralizar la actividad tóxica del veneno total o toxinas del veneno del alacrán *Centruroides noxius* Hoffmann, permitiendo administrar cantidades relativamente pequeñas de dichos fragmentos comparado con la cantidad que se requeriría de sueros hiperinmunes comerciales de caballo. La cantidad de proteína total (fragmentos Fab) a ser administrada en un organismo intoxicado con el veneno de alacrán,

podría ser aproximadamente 10 veces menor que la cantidad requerida de sueros hiperinmunes comerciales.

Asimismo, la invención proporciona un método para el tratamiento de un ser humano afectado por la picadura del alacrán *Centruroides noxius* Hoffmann, que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de fragmentos Fab ó equivalentes del mismo de la presente invención.

Se incluyen los siguientes ejemplos con el fin de ilustrar la presente invención, sin que ésto limite el alcance de la misma.

Ejemplo 1. Producción del anticuerpo BCF2.

Como un paso preliminar, fue aislada la toxina Cn2 a partir del veneno total del alacrán *Centruroides noxius* Hoffmann como se refiere en la referencia no. 19. Sin embargo puede ser utilizada una estrategia de aislamiento y purificación diferente para obtener la toxina Cn2, con la que se generan los hibridomas.

Para obtener la cantidad requerida del anticuerpo monoclonal BCF2 fue necesario cultivar en grandes cantidades el hibridoma productor del mismo ($BCF2^{19}$). Estas células se pusieron a crecer en 25 mililitros de medio RPMI suplementado con suero fetal bovino en una proporción de 10% y con L-glutamina. Una vez crecidas las células iniciales, se sometieron a varios ciclos de crecimiento, pasando las células a nuevos recipientes con medio fresco en cada ciclo.

Posteriormente, el paquete celular se inyectó intraperitonealmente en ratones BALB/c para que se iniciara la producción de líquido de ascitis y de esta manera obtener una alta concentración del anticuerpo. Pasado el tiempo necesario, se extrajo el líquido de ascitis de los ratones y se conservó a una temperatura de -20°C.

Ejemplo 2. Purificación del anticuerpo BCF2.

La purificación de los anticuerpos se realizó por medio de una columna de afinidad de proteína A en presencia de una fuerza iónica alta (NaCl 3 molar). El procedimiento utilizado fue el siguiente:

a) Se equilibró la columna con un amortiguador de boratos 100 milimolar, pH 8.9 y cloruro de sodio 3 molar.

b) Se tomó una alícuota de 1 mililitro de ascitis y se diluyó en 4 mililitros del mismo amortiguador de equilibrio.

c) Se pasó esta solución 3 veces por la columna de afinidad.

d) Se realizaron 2 lavados, uno con un amortiguador de boratos 50 milimolar pH 8.9 con NaCl 3 molar y el otro lavado con un amortiguador de boratos 10 milimolar pH 8.9 con NaCl 3 molar. En ambas ocasiones se pasaron 10 volúmenes de columna (el volumen de columna fue de 5 mililitros).

e) Una vez realizados los lavados, se desprende el anticuerpo con un volumen de columna de glicina 100 milimolar pH 3 y se recuperaron las fracciones en 50 microlitros de amortiguador de Tris pH 7.5.

Ejemplo 3. Determinación de la DL_{50}.

Dent et. al. 1980[21] reporta una DL_{50} para el veneno de *Centruroides noxius* Hoffmann de 5 microgramos por cada 20 gramos de peso de ratón. En la presente invención se determinó *de novo* la DL_{50} tanto para la fracción soluble del veneno completo como para la toxina Cn2. Para este ensayo se utilizaron ocho ratones hembras de la cepa CD1, de cuatro semanas de edad. Fueron pesados para realizar el ajuste de las dosis a utilizar, tanto de toxina Cn2 como de veneno total. Se inició con una dosis de 100 nanogramos por 20 gramos de peso de ratón para la toxina Cn2 y de 2.5 microgramos por 20 gramos de peso para el veneno completo. La dosis se fue incrementando hasta que la mitad de los ratones utilizados murió y la otra mitad sobrevivió; esta dosis es la denominada DL_{50}.

Ejemplo 4. Determinación de la capacidad del anticuerpo BCF2 para neutralizar veneno total de *C. noxius*.

Este ensayo se llevó a cabo con el objeto de demostrar que el anticuerpo BCF2, capaz de neutralizar a la toxina Cn2, es también capaz de neutralizar al veneno completo del alacrán *Centruroides noxius* Hoffmann.

Para este ensayo se utilizaron seis ratones hembras, a los cuales se les aplicó tres DL_{50} de veneno completo en presencia del anticuerpo BCF2, la relación molar del veneno-anticuerpo utilizada fue de 1:10. Antes de aplicar el complejo, el veneno y anticuerpo se mezclan sin agitación a 37°C por 30 minutos. El volumen total aplicado es de 200 microlitros, el veneno y el anticuerpo se disuelven en una solución de PBS.

Se aplicó la mezcla de veneno en la cavidad peritoneal y se observó que todos los ratones sobrevivieron al ensayo (Fig. 1A). Se tenía otro grupo control al cual se le aplicó la misma dosis de veneno sin anticuerpo, de este grupo todos los ratones murieron. Este resultado nos muestra como el anticuerpo tiene la capacidad de neutralizar el veneno completo del alacrán *Centruroides noxius* Hoffmann.

Ejemplo 5. Ensayo de actividad del fragmento Fab contra la toxina Cn2 de *Centruroides noxius* Hoffmann.

Este ejemplo muestra como el fragmento Fab, producto de la digestión del anticuerpo monoclonal BCF2, conserva la capacidad de reconocimiento y neutralización de la toxina Cn2.

Diez microgramos del anticuerpo BCF2, purificado como se señala en el Ejemplo 2, se hicieron reaccionar en presencia de la enzima papaína por un tiempo de 8 horas. Pasado este tiempo se inactivó la reacción con iodoacetamida 20 milimolar. El producto de digestión se pasó por una columna de afinidad con proteína A para separar el fragmento Fab del fragmento Fc y del anticuerpo no digerido.

Una vez que se obtuvo el Fab purificado, se procedió a determinar si éste seguía siendo activo. Este ensayo se realizó por medio de un ELISA, en el cual se aplicó la toxina Cn2 a la placa en una concentración de 3 microgramo/mililitro. Despúes de saturarse la placa con albúmina bovina, se aplicó el Fab purificado y se dejó incubando por una hora a 37°C. Se realizaron lavados y se agregó un segundo anticuerpo de cabra anti-ratón y se procedió a revelar después de dejar una hora a 37°C el segundo anticuerpo.

Al ser el resultado positivo, indicó que el anticuerpo no necesita de la porción Fc para reconocer a su antígeno, es decir que el fragmento Fab efectivamente conserva la capacidad para reconocer la toxina Cn2.

Ejemplo 6. Actividad del fragmento Fab con veneno total del alacrán *Centruroides noxius* Hoffmann.

Con este ejemplo se pretende mostrar que el fragmento Fab retiene la capacidad neutralizante no sólo contra la toxina Cn2 de *Centruroides noxius* Hoffmann, sino contra el veneno total de *Centruroides noxius* Hoffmann.

Se procedió de la misma manera que en el ejemplo 4, con la diferencia de que el fragmento Fab y no el anticuerpo BCF2 fue el que reaccionó con el veneno del alacrán.

El resultado que se obtuvo fue el mismo que en el caso del anticuerpo BCF2 completo, es decir que mientras que los individuos del grupo control murieron, los del grupo ensayado sobrevivieron (ver Figura 1B). Esto confirma que el fragmento Fab de la presente invención efectivamente presenta una capacidad neutralizante *in vivo* contra el veneno total del alacrán *C. noxius* Hoffmann.

Ejemplo 7. Comparación de la eficiencia del fragmento Fab.

Se realizó una comparación entre el fragmento Fab del anticuerpo monoclonal BCF2 y el suero comercial anti-alacrán del Instituto Nacional de Salud (Lote SA046-9), con la finalidad de determinar si el fragmento Fab de la presente invención podría ser competitivo comercialmente.

Se llevaron a cabo ensayos de neutralización con el suero comercial anti-alacrán para determinar su capacidad neutralizante: los ensayos se realizaron como lo describe en la referencia no. 23. Haciendo una comparación de los resultados, se observó que el fragmento Fab es diez veces más potente que el antisuero comercial para neutralizar el veneno de *Centruroides noxius* Hoffmann, a las condiciones de ensayo empleadas.

LISTADO DE SECUENCIAS

Número de secuencias: 4

INFORMACION PARA SEQ ID NO: 1

I. CARACTERISTICAS DE LAS SECUENCIAS
   A) LONGITUD: 117 residuos de aminoácidos
   B) TIPO: aminoácidos
   C) TOPOLOGIA: lineal
II. TIPO DE MOLECULA: proteína
III. HIPOTETICA: si
IV. ANTISENTIDO: no
V. TIPO DE FRAGMENTO: fragmento N terminal
VI. FUENTE ORIGINAL
   A) ORGANISMO: ratón
   B) CEPA: Balb/c
   C) TIPO DE TEJIDO: bazo
   D) TIPO DE CELULA: linfocito
   E) LINEA CELULAR: hibridoma
VII. FUENTE INMEDIATA:
   A) BIBLIOTECA: Biblioteca en fago lambda
IX. CARACTERISTICAS:
   A) NOMBRE/Clave:
   B) LOCALIZACION:
   C) METODO DE IDENTIFICACION: Deducido
   D) OTRA INFORMACION: Secuencia de aminoácidos deducida de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo monoclonal neutralizante BCF2, dirigido contra la toxina 2 del alacrán C. noxius.

```
Val Pro Trp Leu Gln Gln Ser Gli Pro Glu Leu Val Lis Pro Gli Ala
 1               5                  10                  15
Ser Met Lis lle Ser Cis Lis Val Ser Gli Tir Ser Fen Tre Asp His
            20                  25                  30
Tre Met Asn Trp Val Lis Gln Ser His Gli Gli Asn Leu Glu Leu Ile
        35                  40                  45
Gli Leu lle Asn Pro Fen Asn Gli Asp Ala Tre Tir Lis Gln Lis Fen
    50                  55                  60
Tre Gli Lis Ala Tre Lue Tre Val Asp Arg Ser Ser Ser Tre Ala Fen
65                  70                  75                  80
Met Glu Leu Leu Ser Leu Tre Ser Glu Asp Ser Ala Val Tir Tir Cis
                85                  90                  95
Ala Arg Tir Gli Asn Tir Ala Met Asp Tir Trp Gli Gln Gli Tre Ser
            100                 105                 110
Val Tre Val Ser Ser
        115
```

INFORMACION PARA SEQ ID NO: 2

I. CARACTERISTICAS DE LAS SECUENCIAS
A) LONGITUD: 111 residuos de aminoácidos
B) TIPO: aminoácidos
C) TOPOLOGIA: lineal
II. TIPO DE MOLECULA: proteína
III. HIPOTETICA: si
IV. ANTISENTIDO: no
V. TIPO DE FRAGMENTO: fragmento N terminal
VI. FUENTE ORIGINAL
A) ORGANISMO: ratón
B) CEPA: Balb/c
C) INDIVIDUAL/AISLADA:
D) TIPO DE TEJIDO: bazo
E) TIPO DE CELULA: linfocito
F) LINEA CELULAR: hibridoma
VII. FUENTE INMEDIATA:
A) BIBLIOTECA: Biblioteca en fago lambda
IX. CARACTERISTICAS:
A) NOMBRE/CLAVE:
B) LOCALIZACION:
C) METODO DE IDENTIFICACION: deducido
D) OTRA INFORMACION: Secuencia de aminoácidos deducida de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo monoclonal neutralizante BCF2, dirigido contra la toxina 2 del alacrán C noxius.

```
Asp Ile Val Leu Tre Gln Ser Pro Val Ser Leu Ala Val Ser Val Gli
 1               5                  10                  15
Gln Gli Ala Tre Ile Ser Cis Lis Ala Ser Gln Ser Val Asp Fen Asp
            20                  25                  30
Gli Glu Tre Tir Met Asn Trp Tir Gln Gln Lis Pro Gli Gln Pro Pro
        35                  40                  45
Lis Leu Leu Ile Tir Val Val Ser Asn Leu Glu Ser Gli Ile Pro Ala
    50                  55                  60
Arg Fen Ser Gli Ser Gli Ser Gli Tre Asp Fen Tre Leu Asn Ile His
65                  70                  75                  80
Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Tre Tir Tir Cis Gln Gln Ser Asn
                85                  90                  95
Glu Asp Pro Leu Tre Pen Gli Ala Gli Tre Asn Leu Glu Leu Lis
            100                 105                 110
```


INFORMACION PARA SEQ ID NO: 3

I. CARACTERISTICA DE LAS SECUENCIAS
A) LONGITUD: 333 pares de bases
B) TIPO: nucleótidos
C) TIPO DE CADENA: doble cadena
D) TOPOLOGIA: lineal
II. TIPO DE MOLECULA: ANDc para ARNm
III. HIPOTETICA: no
IV. ANTISENTIDO: no
V. FUENTE ORIGINAL
A) ORGANISMO: ratón
B) CEPA: Balb/c
D) TIPO DE TEJIDO: bazo
E) TIPO DE CELULA: linfocito
F) LINEA CELULAR: hibridoma
VII. FUENTE INMEDIATA.
A) BIBLIOTECA: Biblioteca en fago lambda
IX. CARACTERISTICAS:
A) NOMBRE/CLAVE:
B) LOCALIZACION:
C) METODO DE IDENTIFICACION: Experimental
D) OTRA INFORMACION: Secuencia de nucleótidos de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo monoclonal neutralizante BCF2, dirigido contra la toxina 2 del alacrán C. noxius.

```
GTA CCA TGG CTG CAA CAG TCT GGT CCT GAG CTG GTG AAG CCT GGA GCT   48
Val Pro Trp Leu Gln Gln Ser Gli Pro Glu Leu Val Lis Pro Gli Ala
 1               5                  10                  15
TCA ATG AAG ATA TCC TGC AAG GTT TCT GGT TAC TCA TTC ACT GAC CAC   96
Ser Met Lis Ile Ser Cis Lis Val Ser Gli Tir Ser Fen Tre Asp His
            20                  25                  30
ACC ATG AAC TGG GTG AAG CAG AGC CAT GGA AAG AAC CTT GAG TTG ATT  144
Tre Met Asn Trp Val Lis Gln Ser His Gli Gli Asn Leu Glu Leu Ile
        35                  40                  45
GGA CTT ATT AAT CCT TTC AAT GGT GAT GCT ACC TAC AAA CAG AAG TTC  192
Gli Leu Ile Asn Pro Fen Asn Gli Asp Ala Tre Tir Lis Gln Lis Fen
    50                  55                  60
ACG GGC AAG GCC ACA TTA ACT GTA GAC AGG TCA TCC AGC ACA GCC TTC  240
Tre Gli Lis Ala Tre Lue Tre Val Asp Arg Ser Ser Ser Tre Ala Fen
65                  70                  75                  80
ATG GAG CTC CTC AGT CTG ACA TCT GAG GAC TCT GCA GTC TAT TAC TGT  288
Met Glu Leu Leu Ser Leu Tre Ser Glu Asp Ser Ala Val Tir Tir Cis
                85                  90                  95
GCA AGA TAT GGT AAC TAC GCT ATG GAC TAC TGG GGT CAA GGA ACC TCA  336
Ala Arg Tir Gli Asn Tir Ala Met Asp Tir Trp Gli Gln Gli Tre Ser
            100                 105                 110
GTC ACC GTC TCC TCA                                             351
Val Tre Val Ser Ser
        115
```

INFORMACION PARA SEQ ID NO: 4

I. CARACTERISTICA DE LAS SECUENCIAS
A) LONGITUD: 351 pares de bases
B) TIPO: nucleótidos
C) TIPO DE CADENA: doble cadena
D) TOPOLOGIA: lineal
II. TIPO DE MOLECULA: ANDc para ARNm
III. HIPOTETICA: no
IV. ANTISENTIDO: no
VI. FUENTE ORIGINAL
A) ORGANISMO: ratón
B) CEPA: Balb/c
C) TIPO DE TEJIDO: bazo
D) TIPO DE CELULA: linfocito
E) LINEA CELULAR: hibridoma
VII. FUENTE INMEDIATA:
A) BIBLIOTECA: Biblioteca en fago lambda
IX. CARACTERISTICAS:
A) NOMBRE/CLAVE:
B) LOCALIZACION:
C) METODO DE IDENTIFICACION: Experimental
D) OTRA INFORMACION: Secuencia de nucleótidos de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo monoclonal neutralizante BCF2, dirigido contra la toxina 2 del alacrán C. noxius.

```
GAC ATT GTG TTG ACC CAA TCT CGA GTT TCT TTG GCT GTG TCT GTA GGG   48
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Val Ser Leu Ala Val Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
CAA GGG GCC ACC ATC TCC TGT AAG GCC AGC CAA AGT GTT GAT TTT GAT   96
Gln Gly Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Phe Asp
            20                  25                  30
GGT GAA ACT TAT ATG AAC TGG TAC CAA CAG AAA CCA GGA CAG CCA CCC  144
Gly Glu Thr Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
        35                  40                  45
AAA CTC CTC ATT TAT GTT GTA TCC AAT CTA GAA TCT GGG ATC CCA GCC  192
Lys Leu Leu Ile Tyr Val Val Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
    50                  55                  60
AGG TTT AGT GGC AGT GGG TCT GGG ACA GAC TTC ACC CTC AAC ATC CAT  240
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65                  70                  75                  80
CCT GTG GAG GAG GAG GAT GCT GCA ACC TAT TAC TGT CAG CAG AGT AAT  288
Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
                85                  90                  95
GAG GAT CCG CTC ACG TTC GGT GCT GGG ACC AAC CTG GAG CTG AAA      333
Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Asn Leu Glu Leu Lys
            100                 105                 110
```


REFERENCIAS.

[1] Miranda, F., Kopeyan, C., Rochat, C. y Lissitzky, S. (1970). *Eur. J. Biochem.* 16:514-523.

[2] Zoltkin, E., Miranda, F. and Rochat, C. (1978) en *Arthropod venoms* (Bettini, S., de.) vol. 48, pp. 317-369, Springer.Verlag, Berlin.

[3] Possani, L.D. (1984) en Handbook of natural toxins (Tu, A. T., de.) vol. 2, pp. 513-550, Marcel Dekker Inc., New York.

[4] Vazquez, A., Tapia, J.V., Eliason, W.K., Martin, B.M., Lebreton, F., Delepierre. M., Possani, L.D. y Becerril, B. (1995). Cloning and characterization of the cDNA encoding Na+ channel-specific toxins 1 and 2 of the scorpion Centruroides noxius Hoffmann. Toxicon 33:1161-1170.

[5] Couraud, F., Jover, E., Dubois, J.M. y Rochat, H. (1982) . Toxicon 20:9-16

[6] Strichartz, G. Rando, T. y Wang, G.K. (1987). Annu. Rev. Neurosci 10:237-267.

[7] Calderón-Aranda, Hozbor, D. and Possani, L.D., (1993), Neutralizing capacity of murine sera induced by different antigens of scorpion venom. Toxicon31:327-337.

[8] Caderon-Aranda, E.S., Olamendi-Portugal, T. and Possani, L.D. (1995). The use of synthetic peptides can be a mislead approach to generate vaccines against of scorpion venom. Vaccine 13:1198-1206.

[9] Nonner, W. (1979). Adv. Cytopharmacol. 3:345-351.

[10] Strichartz, G., Rando, T. y Wang, G.K. (1987). Annu. Rev. Neurosci. 10:237-267.

[11] Fontecilla-Camps, J.C., Habersetzer-Rochat, C. y Rochat, H. (1988). Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:7443-7447.

[12] Yatani, A., Kirsch, G.E., Possani, L.D. y Brown, A.M. (1988). Am. J. Physiol. 254:H443-H451.

[13] Dent, M.A. R., Possani, L.D., Ramírez, G. A. and Fletcher, P. L. Jr (1980). Purufucation and characterization of two mammalian toxins from the venom of the Mexican scorpion Centruroides noxius Hoffman. Toxicon 18:343-350.

[14] Dehesa-Dávila, M. and Possani, L.D. (1994). Scorpionism and serotherapy in Mexico. Toxicon 32: 1015-1018.

[15] Dehesa-Dávila, M., Alagon, A.C. and Possani, L.D. (1995). Cinical toxicology of scorpion stings. In: Handbook of Clinical Toxicology of Animal Venoms and Poisons, pp. 201-238 (Meier, J. and White, J. Eds.). New York, CRC Press.

[19] Zamudio, F., Saavedra, R., Martin, B. M., Gurrola-Briones, G., Herion, P. and Possani, L.D. (1992). Amino acid sequence and immunological characterization with monoclonal antobodies of two toxins from the venom of the scorpion Centruroides noxius Hoffmann. Eur. J. Biochem. 204:281-292.

[19] Zamudio, F., Saavedra, R., Martin, B. M., Gurrola-Briones, G., Herion, P. and Possani, L.D. (1992). Amino acid sequence and immunological characterization with monoclonal antobodies of two toxins from the venom of the scorpion Centruroides noxius Hoffmann. Eur. J. Biochem. 204:281-292.

[19] Zamudio, F., Saavedra, R., Martin, B. M., Gurrola-Briones, G., Herion, P. and Possani, L.D. (1992). Amino acid sequence and immunological characterization with monoclonal antobodies of two toxins from the venom of the scorpion Centruroides noxius Hoffmann. Eur. J. Biochem. 204:281-292.

[19] Zamudio, F., Saavedra, R., Martin, B. M., Gurrola-Briones, G., Herion, P. and Possani, L.D. (1992). Amino acid sequence and immunological characterization with monoclonal antobodies of two toxins from the venom of the scorpion Centruroides noxius Hoffmann. Eur. J. Biochem. 204:281-292.

[19] Zamudio, F., Saavedra, R., Martin, B. M., Gurrola-Briones, G., Herion, P. and Possani, L.D. (1992). Amino acid sequence and immunological characterization with monoclonal antobodies of two toxins from the venom of the scorpion Centruroides noxius Hoffmann. Eur. J. Biochem. 204:281-292.

[16] Possani, L.D., Fernández de Castro, J., and Juliá, J.Z. (1981). In Antibodies. A Laboratory Manual, Chaps 7 and 8, pp. 245-318 (Harlow, E. and Lane D., Eds.). New York: Cold Spring Harbor.

[17] Calderon-Aranda, E.S., Olamendi-Portugal, T. and Possani, L.D. (1995). The use of synthetic peptides can be a mislead approach to generate vaccines against of scorpion venom. Vaccine 13:1198-1206.

[18] Calderon-Aranda, Hozbor, D. and Possani, L.D. (1993). Neutralizing capacity of murine sera induced by different antigens of scorpion venom. Toxicon 31:327-337.

[19] Zamudio, F., Saavedra, R., Martin, B. M., Gurrola-Briones, G., Herion, P. and Possani, L.D. (1992). Amino acid sequence and immunological characterization with monoclonal antobodies of two toxins from the venom of the scorpion Centruroides noxius Hoffmann. Eur. J. Biochem. 204:281-292.

[20] Solicitud de patente PCT/EP92/04800, mo. de publicación WO/92/15683.

[19] Zamudio, F., Saavedra, R., Martin, B. M., Gurrola-Briones, G., Herion, P. and Possani, L.D. (1992). Amino acid sequence and immunological characterization with monoclonal antobodies of two toxins from the venom of the scorpion Centruroides noxius Hoffmann. Eur. J. Biochem. 204:281-292.

[19] Zamudio, F., Saavedra, R., Martin, B. M., Gurrola-Briones, G., Herion, P. and Possani, L.D. (1992). Amino acid sequence and immunological characterization with monoclonal antobodies of two toxins from the venom of the scorpion Centruroides noxius Hoffmann. Eur. J. Biochem. 204:281-292.

[21] Hale, et. al. (1988). Lancet, ii:1394.

Habiendo descrito la invención como antecede, se reclama como propiedad lo contenido en las siguientes:

REIVINDICACIONES.

1. Un fragmento Fab caracterizado por neutralizar el veneno total del alacrán y toxinas purificadas del veneno de alacrán.

2. El fragmento Fab de conformidad con la reinvindicación 1, caracterizado por presentar una secuencia aminoácida de la cadena pesada SEQ ID No: 1 o una secuencia funcionalmente equivalente.

3. Un fragmento Fab de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque la cadena ligera es de la subclase kappa.

4. Un fragmento Fab de conformidad con la reivindicación 3, caracterizado por presentar una secuencia aminoácida de la cadena ligera SEQ ID No. 2 o una secuencia funcionalmente equivalente.

5. Un fragmento Fab de conformidad con las reivindicaciones 2 a 4, caracterizado por neutralizar el veneno total y toxinas purificadas del veneno de alacranes del género *Centruroides*.

6. Un fragmento Fab de conformidad con la reivindicación 5, caracterizado por neutralizar el veneno total y toxinas purificadas del veneno del alacrán *Centruroides noxius* Hoffmann.

7. Un fragmento Fab de conformidad con la reivindicación 6, caracterizado porque proviene del anticuerpo monoclonal BCF2.

8. Un fragmento Fab de conformidad con la reivindicación 6, caracterizado porque tiene un peso molecular aproximado de 50,000.

9. Un fragmento Fab de conformidad con la reivindicación 6, caracterizado porque 124 micromoles de dicho fragmento neutralizan 1 miligramo del veneno total de alacrán.

10. Un fragmento Fab de conformidad con la reivindicación 6, caracterizado porque neutraliza la toxina Cn2.

11. Un proceso para preparar el fragmento Fab de la reivindicación 6, caracterizado por

a) Obtener un hibridoma productor de un anticuerpo monoclonal capaz de

neutralizar la actividad tóxica del veneno total de alacrán.
b) Purificar el anticuerpo monoclonal.
c) Hidrolizar enzimáticamente dicho anticuerpo monoclonal con la enzima proteolítica papaína.
d) Purificar el fragmento neutralizante por medio de una columna de afinidad.

12. Una composición farmacéutica caracterizada porque comprende un fragmento Fab de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 6, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

13. La composición farmacéutica de la reivindicación 12, caracterizada porque administrada una cantidad terapéuticamente efectiva a un mamífero afectado por picadura de alacrán, neutraliza el efecto tóxico del veneno total del alacrán.

14. El uso de la composición farmacéutica de la reivindicación 13, caracterizada porque su administración es por vía intravenosa, intramuscular, subcutánea, oral o tópica.

15. Un segmento de ADN, caracterizado por presentar una secuencia nucleotídica SEQ. ID. No: 3 o una mutación funcionalmente equivalente que codifica para la cadena pesada del fragmento Fab del anticuerpo monoclonal BCF2.

16. El segmento de ADN de la reivindicación 15, caracterizado porque codifica para la secuencia aminoácida de la cadena pesada del fragmento Fab, SEQ. ID. NO: 1 o una mutación funcionalmente equivalente.

17. Un segmento de ADN, caracterizado por presentar una secuencia nucleotídica SEQ. ID. No: 4 o una mutación funcionalmente equivalente que codifica para la cadena ligera del fragmento Fab del anticuerpo monoclonal BCF2.

18. El segmento de ADN de la reivindicación 19, caracterizado porque codifica para la secuencia aminoácida de la cadena ligera del fragmento Fab, SEQ. ID. NO: 2 o una mutación funcionalmente equivalente.

19. El anticuerpo monoclonal BCF2, caracterizado por contener en su fracción variable de la cadena pesada la secuencia SEQ. ID. NO: 1 y en la cadena ligera una secuencia SEQ. ID. NO. 2.

20. El anticuerpo monoclonal BCF2 de conformidad con la reivindicación 19, caracterizado por neutralizar el veneno total del alacrán.

21. El anticuerpo monoclonal BCF2 de conformidad con la reivindicación 20, caracterizado por neutralizar el veneno total del alacrán *Centruroides noxius* Hoffmann.

22. Una composición farmacéutica caracterizada porque comprende el anticuerpo monoclonal BCF2 de conformidad con la reivindicación 21, y porque cuando se administra en una cantidad terapéuticamente efectiva a un mamífero afectado por picadura de alacrán neutraliza el efecto tóxico del veneno total del mismo.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN.

La presente invención está relacionada con la obtención del anticuerpo monoclonal BCF2 y sus fragmentos Fab derivados, con secuencias SEQ ID No. 1 y SEQ ID No. 2 en su región variable, que específicamente reconocen y neutralizan la actividad tóxica del veneno total y la toxina Cn2 del alacrán *Centruroides noxius* Hoffmann.

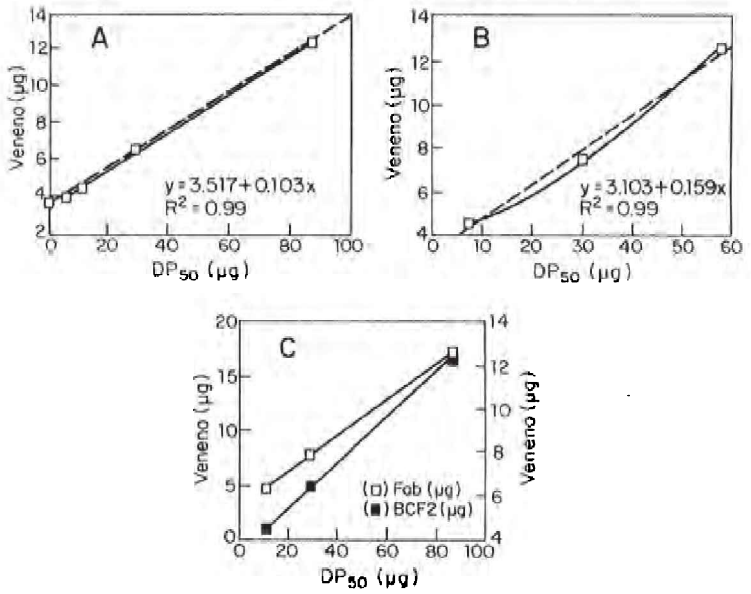


FIGURA 1

(12) **United States Patent**
Duhalt et al.

(10) **Patent No.: US 6,461,859 B1**
(45) **Date of Patent: Oct. 8, 2002**

(54) **ENZYMATIC OXIDATION PROCESS FOR DESULFURIZATION OF FOSSIL FUELS**

(75) Inventors: **Rafael Vazquez Duhalt**, Cuernavaca (MX); **Maria del Pilar Bremauntz**, Edo. de México (MX); **Eduardo Barzana**, Delegn (MX); **Rnunel Tinoco**, Cuernavaca (MX)

(73) Assignees: **Instituto Mexicano del Petroleo**, Mexico (MX); **Universidad Nacional Autonoma de Mexico**, Mexico (MX)

(*) Notice: Subject to any disclaimer, the term of this patent is extended or adjusted under 35 U.S.C. 154(b) by 0 days.

(21) Appl. No.: **09/392,612**

(22) Filed: **Sep. 9, 1999**

(51) **Int. Cl.**[7] **C10G 32/00**
(52) **U.S. Cl.** **435/282**; 435/822, 44/622
(58) **Field of Search** 435/282, 822, 44/622

(56) **References Cited**

U.S. PATENT DOCUMENTS

4,562,156 A	12/1985	Ishida et al.	435/253
4,632,906 A	12/1986	Kopacz	435/282
4,643,820 A	2/1987	Zarnegahal et al.	208/222
4,659,670 A	4/1987	Stevens, Jr. et al.	435/262
4,711,714 A	12/1987	Zarnegahal et al.	208/222
4,808,535 A	2/1989	Ishida	435/252.1
4,851,350 A	7/1989	Stevens, Jr. et al.	435/262
4,861,721 A	8/1989	Madgavkar	435/262
5,002,898 A	3/1991	Kilbane, II	435/252.31
5,104,808 A	3/1992	Kern et al.	44/622
5,104,801 A	4/1992	Kilbane, II	435/282
5,132,219 A	7/1992	Kilbane, II	435/195
5,232,854 A	8/1993	Monticello	435/282
5,344,778 A	9/1994	Kilbane, II	435/262
5,356,813 A	10/1994	Monticello	435/282
5,358,869 A	10/1994	Kilbane, II	435/282
5,387,523 A	2/1995	Monticello	435/282
5,488,752 A	10/1995	Lizama et al.	209/166
5,468,630 A	11/1995	Johnson et al.	435/130
5,472,875 A	12/1995	Monticello	435/282
5,510,677 A	5/1996	Kilbane, II	435/195
5,593,889 A	1/1997	Valentine	435/282
5,624,844 A	4/1997	Xu et al.	435/264
5,726,056 A	3/1998	Xu et al.	435/281
5,753,102 A	5/1998	Finnikoshi et al.	208/208 R
6,160,195 A *	12/2000	Gore	585/833

OTHER PUBLICATIONS

Ayala et al., Biocatalytic oxidation of fuel as an alternative to biodesulfurization, Fuel Processing Technology, vol. 57 1998, pp. 101–111.*

* cited by examiner

Primary Examiner—David A. Redding
(74) *Attorney, Agent, or Firm*—Roylance, Abrams, Berdo & Goodman, L.L.P.

(57) **ABSTRACT**

The invention relates to a method of removing thiophenic and organosulfide compounds from a fossil fuel comprising the steps of contacting the fossil fuel with hemoproteins, which oxidize the sulfur containing compounds to sulfoxides and sulfones in a reaction system containing organic solvent or not, and followed by a distillation step in which sulfoxides and sulfones are removed from the fuel. Preferred biocatalysts include hemoproteins such as chloroperoxidase from *Caldariomyces fumago*, and peroxidases and cytochromes from animal, plant or microbial cells. The hemoprotein biocatalyst can be contacted with the fossil fuel in free or immobilized forms. The reaction can be carried out in the presence of the fuel alone or with addition of any organic solvent. The biocatalytically oxidized fuel is then distilled in order to eliminate the heavy fraction which contains most of oxidized organosulfur compounds. The light distillate contains significantly lower concentrations of sulfur when compared with the starting fossil fuel.

16 Claims, 3 Drawing Sheets

ENZYMATIC OXIDATION PROCESS FOR DESULFURIZATION OF FOSSIL FUELS

The use of fossil fuels for power generation and in the petrochemical industry is expected still to increase in the first decades of the next century. The demand for low-sulfur fossil fuels has been intensified by the increasing regulatory standards for reduced levels of sulfur-oxides in atmospheric emissions, by the decline of easily accessible sources of conventional and light crude oils, and by the high cost of physicochemical process of hydrodesulfurization (HDS). It can be estimated that in the next decades 30% of oil should be desulfurized.

The use of microorganisms for the biodesulfurization of high sulfur coals and oil has been proposed as an interesting alternative for the reduction of the organosulfur contentof fossil fuels [Monticello Finnerty, Ann. Rev. Microbiol. 39 (1985) 371.; Bhadra et al., Biotechnol. Adv. 5 (1987) 1.; Kilbane and Jackowski, Biotechnol. Bioeng. 40 (1992) 1107]. Selective sulfur removal has also been reported by a pathway involving the conversion of dibenzothiophene (DBT) to 2-hydroxybiphenyl (2-HBP) and sulfate, as in the case of Corynebacterium sp. [Omori et al., Appl. Environ. Microbiol. 49 (1992) 911.], *Rhodococcus erythropolis* [Izumi et al., Appl. Environ. Microbiol. 60 (1994) 223.; Ohshiro et al., Appl. Microbiol. Biotechnol. 44 (1995) 249.; Wang et al., Appl. Environ. Mircobiol. 62 (1996) 3066.; Wang and Krawiec, Appl. Environ. Mircobiol. 62 (1996) 1670.], and Rhodococcus sp. strain IGTS8 [Kilbane and Jackowski, Biotechnol. Bioeng. 40 (1992) 1107.; Kayser et al., J. Gen. Mircobiol. 139 (1993) 3123.]. Most of the microbial biodesulfurization studies have focused on the aerobic conversion of DBT, coal or fuels. Nevertheless, reductive desulfurization of fossil fuels is an idea proposed more than 25 years ago by Kurita et al. [Denis-Larose et al., Appl. Environ. Mircobiol. 63 (1997) 2915.]. Mixed cultures containing sulfate-reducing bacteria (SBR) desulfurized a variety of model compounds, including thiophenes, organosulfides and petroleum preparations [Köhler et al., Zentralb1. Mikrobiol. 139 (1984) 239.; Miller, Appl. Environ. Microbiol. 58 (1992) 2176.; Eckart et al., Zentralb1. Mikrobiol. 141 (1986) 291.]. Reductive desulfurization of DBT to form hydrogen sulfide and biphenyl has been achieved by several species of SRB that are able to grow using DBT as sole source of sulfur and sole electron acceptor [Kim et al., Biotechnol. Lett. 12 (1990) 761.; Kim et al., Fuel Process. Technol. 43 (1995) 87.]. Hydrogen gas is the normal source of reducing equivalent, however, electrochemically generated reducing equivalents can be incorporated into the normal electron transport system of SRB.

Microbial desulfurization of petroleum derivatives has two main problems: Microbial activity is carried out in aqueous phase and under mild conditions, thus a two phase system reactor with the intrinsic mass transfer limitations would be needed to metabolize the hydrophobic substrate. On the other hand, the microbial biocatalyst must have a broad substrate specificity for the various organosulfur compound present in oil.

These problems could be addressed by using broad specificity enzyes instead of whole microorganisms. Enzymes are able to perform catalytic reactions in organic solvents [Dordick, Enzyme Microb. Technol. 11 (1989) 194.], in which the mass transfer limitations are reduced. The solvent could be the fuel itself. Under anhydrous conditions or at very low water activity, enzymes are generally more thermostable, and reactions could be performed at temperatures higher than 100° C. [Mozhaev et al., FEBS

Lett. 292 (1991) 159.]. Biocatalytic modification of complex mixtures from petroleum, such as asphaltenes, have been performed in organic solvents for removal of metals [Fedorak et al., Enzyme Microb. Technol. 15 (1993) 429.].

Therefore, it is desirable to develop a biotechnological process which will remove sulfur-containing compound from fossil fuels in one-phase and non-aqueous system.

SUMMARY OF THE INVENTION

The invention relates to a method of removing organosulfur compounds from a fossil fuel comprising two steps. First, the contact of a fossil fuel with a biocatalyst, comprising peroxidases and other hemoproteins, which under suitable conditions oxidizes thiophenes and organosulfides to their respective sulfoxides and sulfones, and a second step in which the oxidized compounds can be separated by a distillation process or an other physicochemical process. The preferred systems included non aqueous systems such as water-saturated fuel, fuel solutions in organic solvents or in other petroleum derivatives. The biocatalyst could be free or immobilized in a support. Preferred embodiments of the biocatalyst include chloroperoxidase from *Caldariomyces fumago*, type-c cytochromes, or other hemoproteins from animal, plant or microbial cells. In one preferred embodiment of the invention, the oxidized organosulfur compounds are separated from the fuel by distillation, resulting in a low sulfur content stream.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

FIG. **1** comprises gas chromatograms of desulfurized diesel fuel that has been enriched with dibenzothiophene and treated in accordance with the present invention;

FIG. **2** comprises gas chromatograms of primary diesel fuel before and after treatment in accordance with the invention; and

FIG. **3** comprises microdistillation profiles of untreated and enzymatically treated diesel fuel.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

The invention is based upon the fact that enzymes that oxidize thiophenes and organosulfides in complex hydrocarbon mixtures and with the presence of organic solvents. organosulfides in complex hydrocarbon mixtures and with the presence of organic solvents. Several enzymes have the ability to oxidize pure or single solutions of thiophenes and organosulfur compounds in vitro; cytochromes P450 [Nastainzcyk et al., Eur. J. Biochem. 60 (1975) 615.; Fukushima et al., J. Biochem. 83 (1978) 1019.; Wantabe et al., Tetrahedron Lett. 21 (1980) 3685.; Wantabe et al., Tetrahedron Lett. 23 (1982) 533.; Takata, et al., Bull. Chem. Soc. Japan 56 (1983) 2300.; Mansuy et al., J. Am. Chem. Soc. 113 (1991) 7825.; Alvarez and Ortiz de Montellano, Biochemistry 31 (1992) 8315.], lignin peroxidase from the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* [Scheiner et al., Appl. Environ. Mircobiol. 54 (1988) 1858.; Vazquez-Duhalt et al., Appl. Environ. Mircobiol. 60 (1994) 459.], lactoperoxidase [Doerge, Arch. Biochem. Biophys. 244 (1986) 678.; Doerge et al., Biochemistry 30 (1991) 8960.], chloroperoxidase from *Caldariomyces fumago* [Alvarez and Ortiz de Montellano, Biochemistry 31 (1992) 8315.; Scheiner et al., Appl. Environ. Mircobiol. 54 (1988) 1858.; Vazquez-Duhalt et al., Appl. Environ. Mircobiol. 60 (1994) 459.; Doerge et al., Biochemistry 30 (1991) 8960.; Kobayashi et al., Biochem. Biophys. Res. Comm. 135 (1986) 166.; Colonna et al., Tetrahedron: Asymmetry 3 (1992) 95.;

Pasta et al., Biochim. Biophys. Acta 1209 (1994) 203.], and horseradish peroxidase [Alvarez and Ortiz de Montellano, Biochemistry 31 (1992) 8315; Doerge et al., Biochemistry 30 (1991) 8960.; Kobayashi et al., Biochem. Biophys. Res. Comm. 135 (1986) 166.; Doerge, Arch. Biochem. Biophys. 244 (1986) 678.]. Non enzymatic hemoproteins are also able to perform the DBT oxidation in vitro, such as hemoglobin [Alvarez and Ortiz de Montellano, Biochemistry 31 (1992) 8315.; Klyachko and Klibanov, Appl. Biochem. Biotechnol. 37 (1992) 53.; Ortiz-Leon et al., Biochem. Biophys. Res. Comm. 215 (1995) 968.], cytochrome c [Klyachko and Klibanov, Appl. Biochem. Biotechnol. 37 (1992) 53; Vazquez-Duhalt et al., Enzyme Microb. Technol. 15 (1993) 494.; Vazquez-Duhalt et al., Enzyme Microb. Technol. 15 (1993) 936.], and microperoxidase [Mashino et al., Tetrahedron Lett. 31 (1990) 3163; Colonna et al., Tetrahedron Lett. 35 (1994) 9103.]. All the proteins mentioned above are hemoproteins, and in all cases the product of the biocatalytic oxidations are the respective sulfoxides. This invention is related to the biocatalytic oxidation of organosulfar compounds in complex mixtures, such as crude oil or petroleum distillates.

Fossil fuels include petroleum, petroleum distillates fractions, coal-derived liquid fuels, oil, bitumens, tars and asphaltenes, and mixtures thereof, particularly petroleum and petroleum distillate fractions as well as synthetic fuels derived therefrom. Fossil fuels containing a particular high content of sulfur in organosulfur compounds, such as dibenzothiophene.

The biocatalyst of the claimed invention includes an enzyme or enzymes or proteins capable of the oxidation reaction on organosulfur compounds in hydrocarbon complex mixtures. The biocatalyst also include chemically and genetically modified proteins. The biocatalyst which can be used in the disclosed method oxidize organosulfides and thiophenic compounds which are present in the fuel thereby producing sulfoxides and sulfones (dioxides) and thereby resulting in sulfur compounds with increased boiling point, leaving at least a majority of the hydrocarbons in their original form. Examples of the biocatalyst include hemoproteins, such as chloroperoxidase (EC 1.11.1.10) from *Caldariomyces fumago,* lignin peroxidase (EC 1.11.1.-) and managnese peroxidase (EC 1.11.1.7) from ligniolytic fungi, and cytochrome c from animal, plant and microbial cells. Biocatalyst that are usefull in the present invention include one or more unmodified hemoproteins, which are proteins containing a heme prosthetic group, and chemically or genetically modified hemoproteins which carry out the desired reaction with or without the presence of any electron aceptor, oxidizing agent or cofactor. Biocatalyst include microbial lysates, cell-free extracts, cell extracts, fractions, subfractions or purified products comprising the proteins capable of carrying out the desired biocatalytic function.

In a preferred embodiment, nutrients and other additives may additionally be added including coenzymes, cofactors or corcactants of the cells or enzymes. Electron aceptors, such as hydrogen peroxide or other organic and inorganic peroxides are used in the reaction.

In one embodiment, the biocatalyst is immobilized, improving this stability and facilitng recovery of the biocatalyst. For example, non-viable microorganisms or purified hemoproteins can be immobilized by physical or chemical procedures on the surface of severals carriers such as membranes, filters, polymeric resins, inorganic material, plastics, glass particles, ceramic particles or other supports.

The reaction can be carried out in a medium containing the fossil fuel in an aqueous phase or preferably in an organic phase. Emulsions and microemulsions can be made according to methods known in the art. The reaction mixture can be constituted by only the fossil fuel, the enzymatic system and the electron acceptor, with or without addition of water or any non-aqueous solvent or surfactants, minimizing the amount of water introduced into the reaction mixture. The reaction medium is then maintained under temperature and pH conditions sufficient to bring about the oxidation of the organosulfur compounds.

For example, the reaction mixture can be incubated under effective conditions for a sufficient period of time to produce a fuel product in which most of organosulfur compounds, thiophenes and organic sulfides, are oxidized. According the biocatalyst used the range of temepratures can be from 5° C. to 150° C. and the range of pH can be from 3 to about 11.

After biocatalytic oxidation, oxidized organosulfur from the reaction mixture containing unafected hydrocarbons are separated preferably by distillation. Other physicochemical processes can be used for the separation of the oxidized organosulfur compounds from the main hydrocarbon mixture such as column chromatography, precipitation, complexation with a solid suport, or another that is or will became available in the art.

The process can be performed in a batch, semicontinuous or continuous methods alone or in a combination with one or more additional refining process. The reaction can be carried out in open or closed vessel.

The invention will now be described more specifically by the examples.

Exemplification

EXAMPLE 1

Preparation of Chloroperoxidase from *Caldariomyces fumago*

Caladaryomyces fumago, a non-sporulating high chloroperoxidase (CPO) producing strain is used and maintained on PDA (potato-dextrose agar medium) plates at 4° C. A 2 liters pelletized *C. fumago* culture [Carmichael and Pickard, Appl. Environ. Microbiol. 55 (1989) 17.] growm for 10 days is used to inoculate 48 liters of fructose-salts medium [Pickard, Can. J. Microbiol. 27 (1981) 1298]. The stirred tank fermenter is operated as an air-lift, using 50 rpm agitation. After 10 days at 27° C. the medium cantains more than 100 mg CPO/l based on the specific activity of 1660 U/mg [Morris and Hager, J. Biol. Chem. 241 (1966) 1763.]. The CPO is essentially the only extracellular protein produced [Pickard et al., J. Ind. Microbiol. 7 (1991) 235.]. The mycelium id filtered through nylon mesh and the spent medium is frozen and thawed twice in 25-liters plastic buckets. Precipitated gel is removed by fitration and centrifugation, prior to concentration to 10% of the original volume using ultrafiltration sytem with a cutoff of 10,000 Da. Remaining pigment is precipited with polyethylen gylcol, and removed by centrifugation. The PEG solution is diluted, reconcentrated by ultrafiltration, and dialyzed against 20 mM phosphate buffer pH 5.0. Further purification is accomplished by exchange chromatography through DEAE cellulose using a gradient of 20 to 200 mM NaCl. The purification can be carried out also by gel exclusion chromatography or by ammonium sulfate precipitation.

EXAMPLE 2

Preparation of Chemically Modified Cytochrome C

Poly(ethylene)glycol-cytochrome c is obtained according Gaertner and Puigserver [Eur. J. Biochem. 181 (1981) 207] by using activated poly(ethylene)glycol with cyanuric chloride (MW 5,000) [Vazquez-Duhalt et al. Enzyme Microb. Technol. 14 (1992) 837]. Cytochrome C is dissolved in a 40 mM borate buffer pH 10 and five-fold excess of activated poly(ethylene)glycol in free amino group basis is added. The reaction mixture is keep at room temperature during 1 hour. The reaction mixture is dialyzed and concentrated on an Amicon ultrafiltration system with a 10,000 Da membrane.

Methylated PEG-cytochrome c is prepared by the alkylation of free carboxylic acid groups to form methyl esters. Lyophilized PEG-cytochrome C (6 mg) is dissolved in 2 ml of N'N-dimethylformamide and then 2 ml of trifluoride-methanol reagent (BF_3-methanol) are added and the reaction mixture is held for 12 hours at room temperature. The reaction mixture is diluted to 40 ml with phosphate buffer pH 6.1 and filtered through a 0.45 μm nylon membrane. Filtrate is then dialyzed and concentrated on an Amicon ultrafiltration system with a 10,000 Da membrane.

EXAMPLE 3

Biocatalytic Oxidation of Single Thiophenes and Organosulfides

The enzymatic reaction mixture (1 ml) contained 20 mM sulfur compound and from 40 to 690 nM cytochrome C or from 2 to 30 nM of chloroperoxidase in 15% (v/v) acetonitrile in 60 mM phosphate buffer (pH 6.1 for cytochrome or pH 3.0 for chloroperoxidase). The acetonitrile or other organic solvent is required to dissolve the sulfur compound in the buffer system. The reactions are carried out at room temeprature and started by adding hydrogen peroxide or other peroxide. The progress of the reaction is monitored by HPLC analysis or by Gas Chromatography.

Various model sulfur compounds were tested, including sulfur heterocycles and sulfides. The kinetic constants found with each sulfur compound are shown in Table 1. The analysis of the reaction products by GC-MS showed, in all cases, a molecular ion corresponding with the molecular weight of the respective sulfoxide.

TABLE 1

Kinetic constant for the oxidation of organosulfur compounds with unmodified horse heart cytochrome c and hydrogen peroxide.

Organosulfur compound	k_{cat} (min $^{-1}$)
Dibenzothiophene	4.31
Thianthrene	3.00
Diphenyl sulfide	1.79
Dibenzyl sulfide	1.59
Benzothiophene	0.95
3-Methylbenzothiophene	0.67
Benzo[b]naphtho[2,1-d]thiophene	0.65

EXAMPLE 4

Oxidation of Low-sulfur Diesel Oil Enriched with Dibenzothiophene

Desulfurized diesel oil (<0.05% of sulfur) is enriched with 10 g/l of DBT and treat with poly(ethylene)glycol-modified cytochrome c (PEG-Cyt) and hydrogen peroxide. As seen in FIG. **1**, where FID—flame ionization detector (general detector); FPD—flame photometric detector (sulfur selective detector), the gas chromatogram shows that the DBT is transformed to DBT sulfoxide, while the hydrocarbons seem to be not affected. DBT sulfoxide is an unstable compound which may be oxidized to form DBT sulfone. Cytochrome c is a biocatalyst able to oxidize thiophenes and organosulfides [Vazquez-Duhalt et al Enzyme Microb. Technol. 15 (1993) 494] and has several advantages when compared with other hemoenzymes. It is active in a pH range from 2 to 11, has the hemo prosthetic group covalently bond, exhibiting activity at high concentrations of organic solvents, and is not expensive [Vazquez-Duhalt et al. Enzyme Microb. Technol. 15 (1993) 494; Vazquez-Duhalt et al Enzyme Microb. Technol. 15 (1993) 936.]. In addition, this biocatalyst can be modified by site-directed mutagenesis [E. Torres et al. Enzyme Microb. Technol. 17 (1995) 1014.] and by chemical modification [Tinoco and Vazquez-Duhalt. Enzyme Microb. Technol. 22 (1998) 8.] to improve both its catalytic activity and range of substrates. PEG-modified enzymes are soluble in organic solvents and their activity in organic solvents is increased because of the reduction of mass transfer limitations in the system [Vazquez-Duhalt et al. Enzyme Microb. Technol. 14 (1992) 837].

EXAMPLE 5

Oxidation of High-sulfur Diesel Oil

Straight-run diesel oil, obtained from primary distillation and containing 1.6% sulfur, is used for oxidation by PEG-Cyt. Using this authentic diesel oil, the modified cytochrome c is able to oxidize most of the organosulfur compounds it contained. The oxidation is detected by the increase of boiling point (retention time) of these compounds on the gas chromatogram monitored with a Flame Photometric Detector (FPD), which is a sulfur selective detector.

With the aim of increasing the biocatalytic oxidation of sulfur compounds, chloroperoxidase from the imperfect fungus *Caldariomyces fumago* can be used on primary diesel oil. FIG. **2** presents gas chromatograms of primary diesel fuel (a) before and (b) after biocatalytic treatment with chloroperoxidase from *Caldariomyces fumago.* FID and FPD have the same meaning as indicated above for FIG. **1**. FIG. **2** shows that most of the organosulfur compounds were significantly oxidized and a considerable increase of the boiling points of all the sulfur compounds was found.

EXAMPLE 6

Biocatalytic Oxidation in Systems Containing Organic Solvent and Low Water Concentration

Biocatalytic oxidation can be carried out in a solvent system constituted by the fossil fuel, a water-miscible organic solvent, and a low amount of water. Another reaction system can be a ternary mixture or microemulsion in which a water inmiscible organic solvent is dissolved in a mixture of polar organic solvent, with or without the presence of a surfactant, and low amount of water. These mixtures are able to form reverse micromicelles or micoemulsions which are considered as one phase systems and in which there is biocatalytic activity. The simplest reaction mixture can be the fossil fuel saturated by water.

EXAMPLE 7

Removal of the Oxidized Sulfur Compounds from the Fossil Fuel by Distillation

After biocatalytic oxidation of the fossil fuel a second process of separation of oxidized organosulfur compounds is envisaged. Because the boiling points of sulfur compounds are incersed after biocatlytic oxidation to sulfoxides, it is

possible to remove them by a single distillation. Oxidized sulfur compounds can be removed by decreasing the final distillation point. When primary diesel fuel containing 1.6% sulfur is distilled in order to obtain a 100% distillation at a temperature 50° C. lower than the original fraction, it produces a diesel fuel containing 1.27% of sulfur and 83% of the original hydrocarbons. If this petroleum fraction is previously oxidized by chloroperoxidase and hydrogen peroxide, and distilled at the same conditions, the disilate shows a sulfur content of only 0.27%, and 71% of total hydrocarbons. Thus, a biocatalytic treatment of primary diesel oil with chloroperoxidase from *Caldariomyces fumago*, followed by a distillation is able to reduce the sulfur content by 80%.

Microdistillations are carried out according to the standard test for boiling range distribution of petroleum fractions by gas chromatography, ASTM D 2887–89. FIG. 3 illustrates microdistillation profiles of untreated and enzymatically treated primary diesel fuel. FID and FPD have the meanings indicated for FIGS. 1 and 2, and CPO is chloroperoxidase. Microdistillation of both treated and untreated diesel oils monitored by Flame Ionization Detector, FID and by Flame Photometric Detector, FPD shows that the hydrocarbon distillation profile monitored by FID (general detection) changes slightly after the biocatalytic treatment. On the other hand, the specific sulfur detector (FPD) shows a significant change of the distillation profile. The IR spectrum of oxidized diesel fuel showed the presence of two strong absorbance bands at 1385 and 1464 cm^{-1} indicating the presence of sulfoxides and sulfones.

EXAMPLE 8

Removal of Oxidized Sulfur Compounds from Fossil Fuels by Chromatography

Because the polarity of organosulfur compound is increased after the biocatalytic oxidation, a chromatographic process can be envisaged to remove these compounds from the fossil fuel. Natural or sythetic supports, such as silica gel, alumina, other metal oxides, natural or sythetic polymers, and other supports containing active groups, can be used.

The invention which is claimed is:

1. A method for removing sulfur from a sulfur-containing fossil fuel comprising the steps of:

a) oxidizing the organosulfur compounds in vitro by contacting the fossil fuel with a biocatalyst comprising a hemoprotein in the presence of hydrogen peroxide to produce the respective sulfoxides and sulfones, and

b) removing the produced sulfoxides and sulfones from the fuel mixture.

2. The method of claim **1**, wherein an electron acceptor or oxidizing agent comprising cumene, an organic hydroperoxide, or a mineral peroxide is added to the reaction mixture.

3. The method of claims **1** wherein the biocatalyst contains an unmodified, a chemically modified or a genetically modified hemoprotein.

4. The method of claim **1** wherein the hemoprotein is a peroxidase or a type C cytochrome.

5. The method of claim **4** wherein the peroxidase is chloroperoxidase from *Caldariomyces fumago*.

6. The method of claim **4** wherein the type C cytochrome is obtained from horse heart cells or other animal tissue, horseradish or other plant, *Saccharomyces cerevisiea*, *Escherichia coli* or other microbial cells.

7. The method of claim **6** wherein the source of type C cytochrome is recombinant.

8. The method of claim **3** wherein the chemically modified hemoprotein is poly(ethylene)glycol-cytochrome c.

9. The method of claim **4**, wherein the biocatalytic reaction is carried out in the presence of one or more organic solvents.

10. The method of claim **4** wherein the biocatalytic reaction is carried out in the fossil fuel containing low amounts of water.

11. The method of claim **4**, wherein the biocatalytic reaction is carried out at a temperature higher than 60° C.

12. The method of claim **4**, wherein the separation process to remove the oxidized organosulfur from the fuel mixture is a distillation.

13. The method of claim **4**, wherein the separation process to remove the oxidized organosulfur from the fuel mixture is a chromatographic process.

14. The method of claim **4** wherein the fossil fuel is a petroleum or coal.

15. The method of claim **1**, wherein the sulfoxides and sulfones are removed from the fuel mixture by distillation, chromatography or precipitation.

16. A method for removing sulfur from a sulfur-containing fossil fuel comprising the steps of:

a) oxidizing the organosulfur compounds in vitro by contacting the fossil fuel with a biocatalyst in the presence of hydrogen peroxide to produce the respective sulfoxides and sulfones, and

b) removing the produced sulfoxides and sulfones from the fuel mixture.

* * * * *

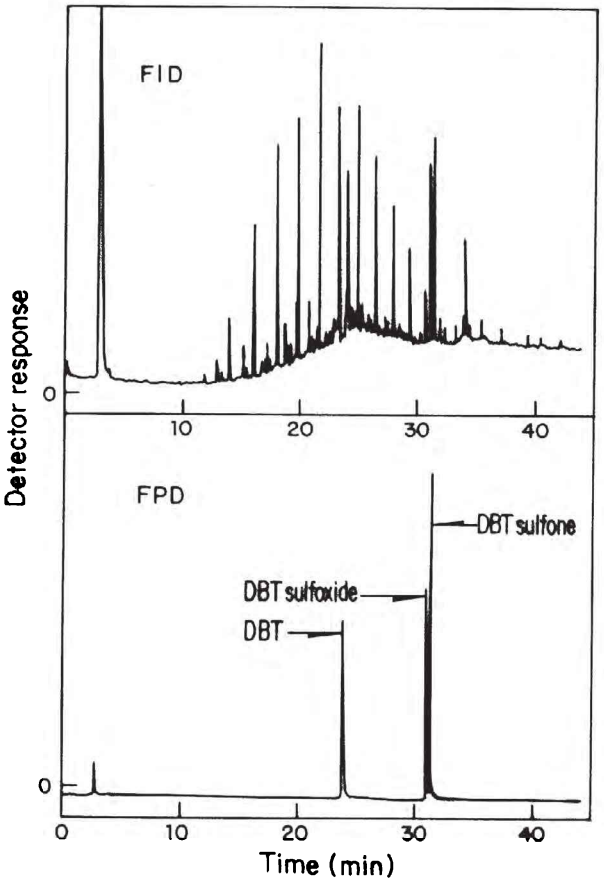


FIG. 1

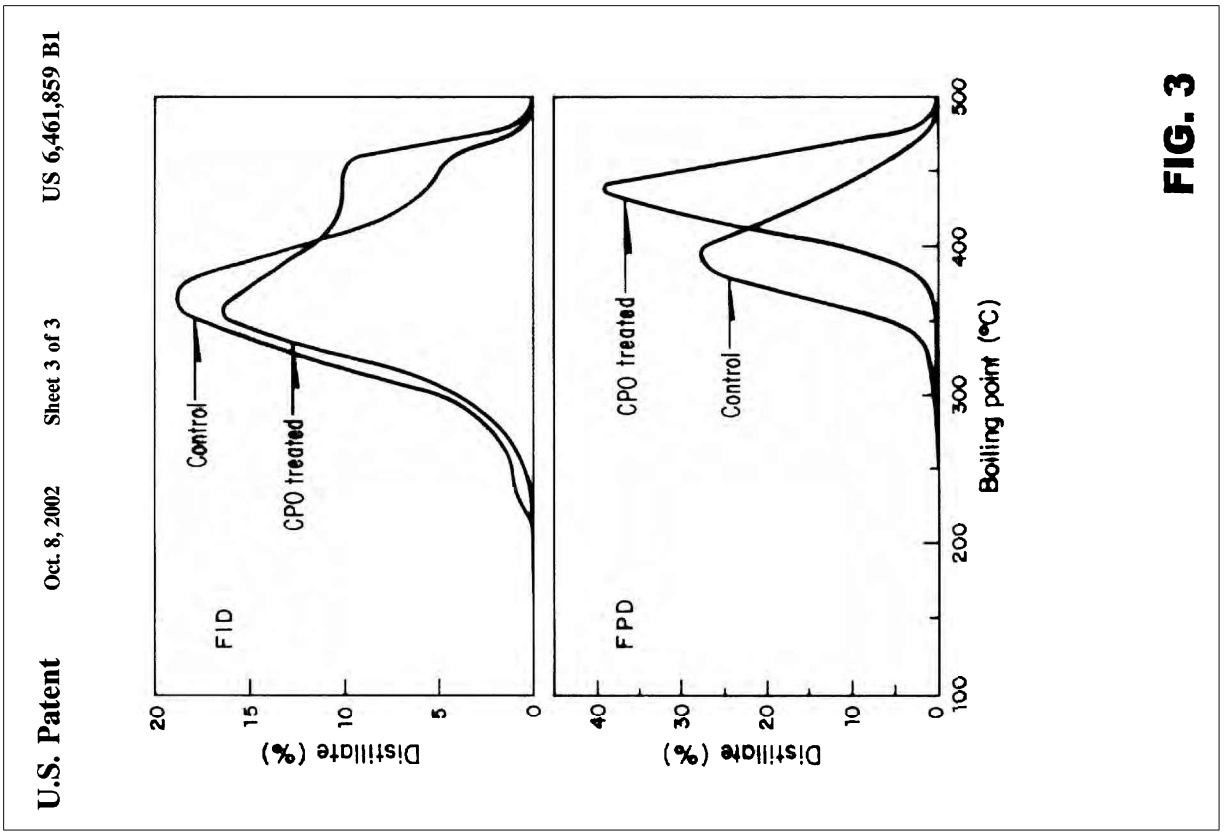

U.S. Patent
Oct. 8, 2002
Sheet 3 of 3
US 6,461,859 B1
FID
Control
CPO treated
Distillate (%)
FPD
CPO treated
Control
Distillate (%)
Boiling point (°C)

FIG. 3

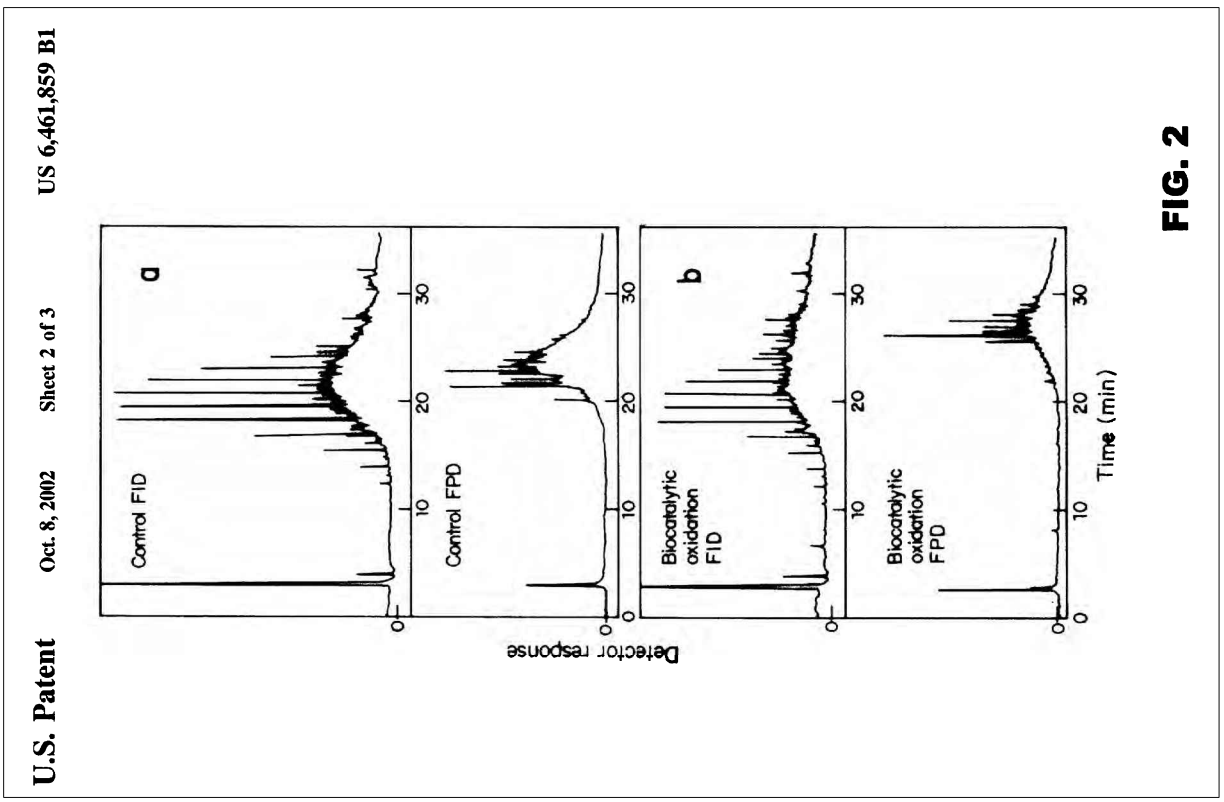

U.S. Patent
Oct. 8, 2002
Sheet 2 of 3
US 6,461,859 B1
a
Control FID
Control FPD
b
Biocatalytic oxidation FID
Biocatalytic oxidation FPD
Detector response
Time (min)

FIG. 2

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
10 May 2007 (10.05.2007)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2007/053524 A3

(51) International Patent Classification:
C12P 21/08 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/US2006/042236

(22) International Filing Date: 27 October 2006 (27.10.2006)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/731,185 28 October 2005 (28.10.2005) US

(71) Applicant *(for all designated States except US)*: **THE FLORIDA INTERNATIONAL UNIVERSITY BOARD OF TRUSTEES** [US/US]; University Park, PC 525, Miami, FL 33199 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants *(for US only)*: **ALMAGRO, Juan, C.** [CU/US]; 14170 SW 93rd Lane, Miami, FL 33186 (US). **ALAGON-CANO, Alejandro** [MX/MX]; Universidad 1200, Colonia Chamilpa, Cuernavaca (MX). **SOLIS, Jorge, Paniagua** [MX/MX]; Cda. de Arenal 44-9, Valle Escondido, Tlalpan, 14600 (MX). **SMITH, Sylvia, L.** [GB/US]; 11200 SW 107 Avenue, Miami, FL 33199 (US). **VELANDIA, Alvaro** [CO/US]; 13730 SW 171 Lane, Miami, FL 33199 (US).

(74) Agents: **BRASHEAR, Jeanne, M.** et al.; MARSHALL, GERSTEIN & BORUN LLP, 233 S. Wacker Drive, Suite 6300, Sears Tower, Chicago, IL 60606-6357 (US).

(81) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of national protection available)*: AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:
— *with international search report*
— *before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments*

(88) Date of publication of the international search report:
23 August 2007

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

WO 2007/053524 A3

(54) Title: HORSE: HUMAN CHIMERIC ANTIBODIES

(57) Abstract: The present invention provides a plurality of chimeric single chain variable region (scFv) antibodies. The chimeric scFv antibodies individually comprise variable regions from both horse and non-horse antibodies. Methods of making and using the plurality are also provided.

Índice

Agradecimientos 5

Prólogo 7

Prefacio 9

1. La sociedad del conocimiento 11
La importancia de la ciencia y la tecnología en la sociedad

2. Galileo 15
Los orígenes de la investigación experimental

3. "El método" 25
El método científico

4. Variaciones al "método" 33
Teorías sin observaciones, eventos inesperados, experimentos "fallidos", errores, etcétera

5. El tema 43
La definición del tema de investigación

6. La originalidad 49
Revisión de la literatura

7. El plan 55
El proyecto de investigación

8. La acción (y sus evidencias) 71
Desarrollo y documentación de la investigación

9. La reflexión 79
Análisis de datos experimentales

10. La presentacion de datos 91
Convencer al público y a los colegas

11. La comunicación (escrita) 105
El informe final y la publicación

12. La comunicación (audiovisual) 113
La presentación de los resultados del proyecto

13. La honestidad 127
Las normas éticas de la ciencia

14. La propiedad intelectual 137
Cómo apropiarse del conocimiento

15. Investigación experimental a nivel preuniversitario 151

Apéndice 163

El quehacer de la ciencia se terminó de imprimir
en Editorial Impresora Apolo, S.A. de C.V.
Centeno 150-6, col. Granjas Esmeralda
09810 México, D.F., el 26 de marzo de 2013.
La edición consta de dos mil ejemplares.